

Université Paris-Sud XI
Ecole doctorale 420 « Santé Publique »

Thèse de doctorat en Santé Publique
Spécialité Génétique Statistique

**Étude des facteurs modificateurs du risque de
cancer du sein des femmes à risque génétique élevé**

Présentée par
Julie Lecarpentier

Soutenue publiquement le
Mardi 27 Novembre 2012

Sous la direction de
Nadine Andrieu

Réalisée au sein de l'unité
**Inserm U900/École des Mines Paris-tech/Service de Biostatistiques de
l'Institut Curie**
**Cancer et génome : bioinformatique, biostatistiques et épidémiologie
d'un système complexe**
Equipe : Epidémiologie des cancers

Composition du jury :

Monsieur Jean Bouyer	Président
Madame Maria Martinez	Rapporteur
Madame Fabienne Lesueur	Rapporteur
Madame Emmanuelle Génin	Examinatrice
Monsieur Etienne Rouleau	Examineur
Madame Nadine Andrieu	Directrice de Thèse



*Hâtez-vous lentement, et sans perdre courage,
Vingt fois sur le métier remettez votre ouvrage,
Polissez-le sans cesse, et le repolissez,
Ajoutez quelquefois, et souvent effacez.*

De L'Art poétique (1674) Nicolas Boileau

Aux trois femmes de ma vie :

*Mes colocataires depuis bientôt 30 ans :
Maman et Mimi (s'il vous plaît, arrêtez de me
souhaiter la saint Tanguy chaque année, c'est
vexant... Et oui, dès demain je range ma
chambre !!!)*

*Et Mammouth, ma grand-mère, qui dès le
lendemain de mon inscription en thèse s'est
entraînée à dire « Épidémiologie Génétique »
pour en parler à ses copines.*

*Enfin, à Papa, qui m'a interdit de fréquenter
des garçons avant la fin de mes études...
Fini de porter un chapeau débile à la Sainte-
Catherine !!!*

*Merci pour tout l'amour que vous m'avez
donné.*

Remerciements

Je remercie tout d'abord Maria Martinez, Fabienne Lesueur, Emmanuelle Génin, Etienne Rouleau et Jean Bouyer de m'avoir fait l'honneur d'évaluer ce travail.

Durant ces quatre années de thèse, j'ai eu la chance d'apprendre à connaître Nadine, un drôle de personnage aux multiples facettes qui a su créer une équipe à son image. Il y a Nadine « la directrice de thèse » en qui j'ai une confiance absolue. Elle aussi a su me faire confiance et me laisser « tenter des trucs chelous » qui ont parfois abouti, et parfois non... Merci Nadine de m'avoir guidée tout au long de cette thèse.

Je remercie également Nadine « l'être humain » incroyablement bavarde, pleine d'humour, d'attentions, mais aussi de doutes et de contradictions. N'oublie pas la chanson d'Anne Sylvestre, « J'aime les gens qui doutent ». J'ai adoré rire avec toi. Merci d'avoir vu en moi autre chose qu'une étudiante, qu'un boulet, et d'avoir partagé avec moi cet aspect de ta personnalité.

Il existe encore bien d'autres Nadine, comme la Nadine qui est devenue inséparable de son portable et qui râle qu'elle « n'a pas d'ami » si elle n'a pas reçu de SMS depuis 2 minutes. Merci de m'avoir harcelée de textos, y compris pour me donner des informations qui ne servent à rien : « Je suis arrivée à la gare, ton train arrive voie E »... Ça, c'est intéressant de le savoir quand on monte dans un train, pas quand on en descend Nadine...

Avec toi Nadine, j'ai appris bien plus que d'un simple point de vue professionnel.

Je remercie les sorcières de la rue Mouffetard pour leur gentillesse, leur soutien sans faille et leur bonne humeur. Comment décrire les femmes formidables de cette drôle d'équipe ??? Je vais donc jeter sur le papier la première image qui me vient quand je pense à chacune d'entre elles.

Lucie, un kangourou vert fluo avec une bouche immense qui prend des airs d'écureuil quand elle va dire une bêtise ? Merci Lucie pour m'avoir fait mourir de rire un nombre incalculable de fois, merci de m'avoir soutenue dans les moments difficiles. Malgré le différend majeur qui nous oppose, à savoir : a-t-on le droit de mettre le chauffage à partir du 1^{er} mai, tu me manques beaucoup !

Eve, une jolie fleur multicolore avec des grosses lunettes de soleil et un fichu sur la tête ? Merci Eve, pour ta gentillesse, mais aussi pour toutes tes bizarreries, tes petits bruits, tes éternuements (les plus flippants que je connaisse) et tes réflexions journalières sur la mort :

- Julie ?*
- Oui, Eve ?*
- On va tous mourir...*
- Oui, c'est très probable Eve.*

Séverine, une maman chat rose se dressant fièrement tel un sphinx ? Merci Séverine d'être aussi attentive au bonheur de ceux qui t'entourent et d'avoir tant pris soin de moi.

Marie-Gabrielle, un frêle échassier aux plumes argentées et aux oreilles supersoniques ? Merci Marie-Gabrielle de t'être toujours rendue aussi disponible à chaque fois que j'ai eu besoin d'aide ou que je me sentais perdue !!! Merci aussi de m'avoir tant aidée dans la dernière ligne droite !

Morgane, une jeune louve vert émeraude au regard de braise toujours prête à défendre la veuve et l'orphelin ? Merci Momo pour ton côté brut de décoffrage qui cache un petit cœur tout tendre en beurre salé breton.

Angéline, un charmant petit hérisson bleu à mèche portant des doc-Martens ? Merci Justin Berbère, tu m'as sortie une fière chandelle du pied en mettant à profit tes talents de rat de bibliothèque ! Merci aussi pour ton humour aussi cinglant !

Dorothée, un bel hippocampe orange vif avec de grands cils noirs ? Merci Dodo la Saumure pour m'avoir fait rire quotidiennement avec ta blonditude, pour ton sens de l'auto dérision et pour toutes les bêtises que tu fomentes régulièrement.

Juana, un petit lapin blanc angora avec un charmant accent hispanique ? Merci Juana pour ton soutien, ta gentillesse et pour m'avoir entraînée à l'aquagym.

Noura, une licorne fuchsia atteinte du syndrome de Gilles de la Tourette avec un chapeau à plume sur la tête ? Merci Noura, pour nos conversations hautement philosophiques sur l'être humain et pour ton imitation absolument lamentable du dromadaire mazouté.

Enfin Martine, une tortue dorée majestueuse transportant sur son dos tous les êtres ayant besoin d'un abri ? Merci Martine pour ton extrême bonté. Tu es une très belle personne !

Je remercie mes petites sœurs, Louise, mon grand bébé d'1m75 et Jeanne, jamais à court de remarques étonnantes (« dis, tu savais Julie que c'est Dieu qui a inventé le chômage ? Bah si, c'est écrit : et le septième jour il chôma !!! »).

Je remercie ma grande famille maternelle d'être aussi dingue. Je pense qu'on pourrait faire un roman de chacun d'entre vous. Je suis heureuse et fière d'appartenir à cette famille.

Je remercie ma famille paternelle pour ces grandes tablées joyeusement bruyantes d'hier et d'aujourd'hui.

Je remercie Eric grâce à qui je commence à m'épanouir telle une petite fleur au soleil.

Je remercie Audrey Bourgeois, la secrétaire de l'ED420, toujours charmante, efficace et vraiment arrangeante !

Je remercie Michelle, mais tu pourrais quand même envoyer une carte postale de temps en temps !

Je remercie Boris dit Moustique, Léon, Lucien et Elvis pour leur amitié sans faille.

Je remercie Ramsès, d'avoir été un super pote.

Je remercie la touche F4 de mon clavier sans qui la mise en page de ce manuscrit n'aurait pas été possible.

Je remercie le correcteur orthographique de Word en espérant qu'il ne reste plus de faute.

Je remercie Freddie Mercury, parce que j'ai envie.

Enfin, je me remercie moi-même, parce que c'est quand même moi qui l'ai écrite cette thèse !

Non-remerciements

Oui, parce qu'il y a quand même des trucs qui énervent...

Je non-remercie le réseau internet de la rue Mouffetard.

Je non-remercie les usagers de la ligne B du RER pour leur manque de civilité et de solidarité.

Je non-remercie l'individu qui a volé la tête de cheval en pierre volcanique de Christine dans mon propre jardin.

Je non-remercie les hamacs de Castorama qui ne tiennent pas en place lorsque l'on veut les essayer.

Je non-remercie les vendeurs de Castorama qui se souviennent encore de moi.

Je non-remercie l'inventeur du raccourci clavier qui permet de faire basculer l'écran et grâce à qui j'ai perdu une bonne heure à essayer de comprendre pourquoi mon écran avait la tête en bas.

Je non-remercie mon orthographe.

Dé-remerciements

Après réflexion, je dé-remercie le correcteur orthographique de Word, qui s'étant désactivé, m'a laissé croire pendant 4 pages que j'étais devenue bonne en orthographe...

Résumé

Les femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2* ont un risque de cancer du sein (CS) très élevé dont les estimations varient beaucoup d'une étude à l'autre. L'objectif principal de cette étude est de mieux estimer le risque de CS associé aux gènes *BRCA1/2* en tenant compte de la variabilité des mutations et des facteurs « environnementaux/style de vie » et de leur éventuelle interaction. Nous avons analysé les données de la cohorte GENEPSO composée de femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2* à l'aide d'un modèle de Cox pondéré. L'analyse des facteurs de risque gynéco-obstétrique et de « style de vie » a permis de mettre en évidence une association entre le risque de CS et les radiations ionisantes, la consommation de tabac, l'indice de masse corporelle, l'âge aux premières règles, la parité, les interruptions de grossesse, la contraception orale, la ménopause et les traitements hormonaux substitutifs. Cette étude confirme l'existence d'une zone centrale à moindre risque de CS dans les gènes *BRCA1/2* et décrit une nouvelle région à haut risque située dans la région 3' du gène *BRCA2*. Cette étude montre également une interaction entre la localisation des mutations et la parité ainsi que la ménopause. Cette étude montre l'importance de la prise en compte simultanée des facteurs de risque « non génétiques » et de la localisation des mutations dans les gènes *BRCA1/2* dans l'estimation des risques de CS. Si nos résultats sont confirmés sur de plus larges données, cette étude pourrait aider ces femmes dans le choix du type de stratégie de surveillance ou de prévention le mieux adapté à leur situation.

Mots clés : Cancer du sein, facteurs de risque, *BRCA1/BRCA2*, localisation des mutations, interactions

Abstract: Breast cancer risk modifying factors in high risk women

Breast cancer is the most frequent and mortal cancer among French women. Mutations in *BRCA1* and *BRCA2* confer a high risk of breast cancer. The diversity of *BRCA1* and *BRCA2* mutations and of gynecological and life style risk factors may modify the magnitude of this risk. The objective of this study is to assess breast cancer risk taking into account gynecological and life style factors, location of mutation in *BRCA1* and *BRCA2* genes and their potential interaction.

The data from 1337 women *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers of the French study GENEPSO have been analysed by using a weighted Cox regression model to take into account the bias of recruitment.

Our results show an association between breast cancer risk and X-ray exposures, tobacco, body mass index, age at menarche, parity, interrupted pregnancies, oral contraceptives, menopausal status and hormone replacement therapy. We confirm the existence of a central low breast cancer risk region in *BRCA1* (LR1 region between codons 374 and 1161) and in *BRCA2* (LR2 region between codons 957 and 1827). In addition, a new high breast cancer risk region is found in the 3' region of *BRCA2* (HR2 region between codons 2546 and 2968). Moreover, our results suggest a variation in breast cancer risk associated with parity and menopausal status according to the location of the mutation in *BRCA1* and *BRCA2*.

Our findings show that, taking into account environmental and lifestyle modifiers, mutation position might be important for the clinical management of *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers and could also be helpful in understanding how *BRCA1* and *BRCA2* genes are involved in breast cancer.

Key words : breast cancer, risk factors, *BRCA1/BRCA2*, location of mutations, interactions.

Plan

Chapitre I : Introduction	23
I. Le cancer du sein dans l'histoire	25
II. Anatomie de la glande mammaire	26
III. Le cancer du sein	27
IV. Epidémiologie descriptive du cancer du sein	29
V. Facteurs de risque du cancer du sein	32
A. Facteurs gynéco-obstétriques	33
1. Age aux premières règles et à la ménopause	34
2. Densité mammaire	35
3. Grossesses menées à terme	37
4. Allaitement	38
5. Interruptions de grossesse	38
6. Prise de contraceptifs	39
7. Prise de traitements hormonaux substitutifs	39
B. Facteurs environnementaux et de mode de vie	40
1. Indice de masse corporelle (IMC)	40
2. Consommation de tabac	41
3. Consommation d'alcool	41
4. Expositions aux radiations ionisantes	42
C. Facteurs génétiques	44
1. La découverte des gènes <i>BRCA1</i> et <i>BRCA2</i>	45
2. Les gènes syndromiques	47
3. Les SNPs	50
4. Les gènes <i>BRCA1</i> et <i>BRCA2</i>	51
VI. Implications en oncogénétique	67
VII. Objectif de ma thèse	69
Chapitre II : Matériels et méthodes	71
I. La cohorte GENEPSO	73
A. Le recrutement des cas et des témoins	73
B. Le questionnaire	74
C. Les Facteurs étudiés	75
D. Recherche de mutations	81
II. Analyse des données de la cohorte GENEPSO	82
A. La censure	82
B. Modèle « général » de régression	84
C. Le modèle de Cox	85
D. Variation du risque de cancer du sein associée à la localisation des mutations dans les gènes <i>BRCA1</i> et <i>BRCA2</i>	89
1. Approche gnostique	90
2. Approche agnostique	91
E. Stratégie d'analyse	95
Chapitre III : Résultats	97
I. Facteurs gynéco-obstétriques et de « style de vie »	103
A. Les facteurs exogènes	103
1. Les radiations ionisantes thoraciques	103
2. La consommation de tabac	105
3. La consommation d'alcool	106
B. L'indice de masse corporelle	110
C. Les facteurs gynéco-obstétriques	112
1. L'âge aux premières règles et la durée des cycles	112
2. Les traitements contraceptifs	114

3.	Les grossesses menées à terme et allaitement.....	116
4.	Les grossesses interrompues	119
5.	Le score « Mitotic Activity during Pregnancies » (TMAP)	124
6.	La ménopause	125
7.	Traitements hormonaux substitutifs.....	127
II.	Type et localisation des mutations.....	129
A.	Type des mutations.....	129
B.	Localisation des mutations tronquantes.....	130
1.	Méthode gnostique.....	130
2.	Méthode agnostique	136
3.	Test de sensibilité.....	138
III.	Résultats des analyses menées sur la cohorte pseudo-incidente	141
IV.	Interaction facteurs de risque/localisation des mutations	147
	Chapitre IV : Discussion	171
I.	Rappel des résultats les plus importants	173
II.	Limites	173
III.	Résultats	175
A.	Facteurs non génétiques	175
1.	Exposition thoracique aux rayons X.....	175
2.	Consommation de tabac et d'alcool	176
3.	Indice de masse corporelle.....	177
4.	Age aux premières règles et la ménopause	178
5.	Utilisation de traitements hormonaux substitutifs	178
6.	Grossesses menées à terme	179
7.	Interruptions de grossesses	180
8.	Score TMAP	180
B.	Localisation des mutations	181
C.	Variation du risque associé aux facteurs non génétiques en fonction de la localisation des mutations dans les gènes <i>BRCA1</i> et <i>BRCA2</i>	186
IV.	Conclusion	189
V.	Perspectives	189
	Annexes	191
I.	Publications issues de ce travail de thèse.....	193
II.	Du gène à la protéine	221
	Première étape : la transcription.....	221
	Deuxième étape : l'épissage	221
	Troisième étape : la traduction	222
III.	Indications de recherche de mutation sur les gènes <i>BRCA1</i> et <i>BRCA2</i>	223
IV.	Questionnaire d'inclusion	225
V.	Distribution des mutations dans la cohorte GENEPSO	239
VI.	Programme Excel pour le calcul des poids	247
VI.	Programme stata pour permutations	249
	Références	253

Liste des tableaux

Tableau 1 : Récapitulatif des facteurs de risque gynéco-obstétrique et « de style de vie » en population générale	43
Tableau 2 : Incidences de cancer du sein et de l'ovaire estimées chez les porteuses de mutation sur les gènes <i>BRCA1</i> ou <i>BRCA2</i> (extrait de Antoniou <i>et al.</i> [103])	88
Tableau 3 : Découpage en quantiles de 20 du gène <i>BRCA1</i>	92
Tableau 4 : Découpage en quantiles de 20 du gène <i>BRCA2</i>	93
Tableau 5: Description de la cohorte GENEPSO.....	100
Tableau 6 : Variation du risque de cancer associé aux expositions thoraciques aux rayons X en fonction du gène muté	104
Tableau 7 : Variation du risque de cancer du sein associé à la consommation de tabac et d'alcool.....	107
Tableau 8 : Variation du risque de cancer du sein associé à la consommation de tabac et d'alcool chez les porteuses d'une mutation du gène <i>BRCA1</i>	108
Tableau 9 : Variation du risque de cancer du sein associé à la consommation de tabac et d'alcool chez les porteuses d'une mutation du gène <i>BRCA2</i>	109
Tableau 10 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'indice de masse corporelle en fonction du gène muté	111
Tableau 11: Variation du risque de cancer du sein associé à l'âge aux premières règles et à la durée des cycles en fonction du gène muté	113
Tableau 12 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'utilisation de traitements contraceptifs en fonction du gène muté.....	115
Tableau 13 : Variation du risque de cancer du sein associé aux grossesses menées à terme (GMT) en fonction du gène muté.....	117
Tableau 14 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'allaitement en fonction du gène muté	118
Tableau 15 : Variation du risque de cancer du sein associé aux grossesses interrompues en fonction du gène muté	121
Tableau 16 : Variation du risque de cancer du sein associé aux grossesses interrompues au cours des trois premiers mois et au score TMAP en fonction du gène muté	123
Tableau 17: Exemple de valeurs du score TMAP	125
Tableau 18 : Variation du risque de cancer du sein associé au statut ménopausique en fonction du gène muté	126
Tableau 19 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'utilisation de traitements hormonaux substitutifs en fonction du gène muté	128
Tableau 20 : Variation du risque de cancer du sein associé au type de mutation dans les gènes <i>BRCA1</i> and <i>BRCA2</i>	129
Tableau 21 : Variation du risque de cancer du sein associé à la conservation des domaines fonctionnels du gène <i>BRCA1</i>	131
Tableau 22 : variation du risque de cancer du sein associé à la conservation des domaines fonctionnels du gène <i>BRCA2</i>	133
Tableau 23 : variation du risque de cancer du sein associé à l'initiation du phénomène NMD	135
Tableau 24 : Variation du risque de cancer du sein associé à la localisation des mutations tronquantes dans les gènes <i>BRCA1</i> and <i>BRCA2</i>	137
Tableau 25 : Estimation du risque de cancer du sein associé à la localisation des mutations tronquantes dans la région LR1 du gène <i>BRCA1</i> dans les 20 échantillons « une femme par famille ».....	139

Tableau 26 : Estimation du risque de cancer du sein associé à la localisation des mutations tronquantes dans la région LR2 et HR2 du gène <i>BRCA2</i> dans les 20 échantillons « une femme par famille »	140
Tableau 27 : Variation du risque de cancer du sein associé à la localisation des mutations tronquantes dans les gènes <i>BRCA1</i> and <i>BRCA2</i> dans la cohorte pseudo-incidente	141
Tableau 28 : Variation du risque de cancer du sein associé aux expositions thoraciques aux rayons X, à la consommation de tabac et d'alcool dans la cohorte pseudo-incidente	142
Tableau 29 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'indice de masse corporelle dans la cohorte pseudo-incidente.....	143
Tableau 30 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'âge aux premières règles et à la durée des cycles dans la cohorte pseudo-incidente	143
Tableau 31 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'utilisation de traitements contraceptifs dans la cohorte pseudo-incidente.....	144
Tableau 32 : Variation du risque de cancer du sein associé aux grossesses menées à terme et à l'allaitement dans la cohorte pseudo-incidente	144
Tableau 33 : Variation du risque de cancer du sein associé aux grossesses interrompues et au score TMAP dans la cohorte pseudo-incidente.....	145
Tableau 34 : Variation du risque de cancer du sein associé au statut ménopausique dans la cohorte pseudo-incidente.....	145
Tableau 35 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'utilisation de traitements hormonaux substitutifs dans la cohorte pseudo-incidente.....	146
Tableau 36 : Variation du risque de cancer associé aux expositions thoraciques aux rayons X en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène <i>BRCA1</i>	148
Tableau 37 : Variation du risque de cancer associé aux expositions thoraciques aux rayons X en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène <i>BRCA2</i>	149
Tableau 38 : Variation du risque de cancer associé à la consommation de tabac et d'alcool en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène <i>BRCA1</i>	150
Tableau 39 : Variation du risque de cancer associé à la consommation de tabac et d'alcool en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène <i>BRCA2</i>	151
Tableau 40 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'indice de masse corporelle en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène <i>BRCA1</i>	152
Tableau 41 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'indice de masse corporelle en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène <i>BRCA2</i>	153
Tableau 42 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'âge aux premières règles et à la durée des cycles en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène <i>BRCA1</i>	154
Tableau 43 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'âge aux premières règles et à la durée des cycles en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène <i>BRCA2</i>	155
Tableau 44 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'utilisation de traitements contraceptifs en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène <i>BRCA1</i>	156
Tableau 45 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'utilisation de traitements contraceptifs en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène <i>BRCA2</i>	157
Tableau 46 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'allaitement en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène <i>BRCA1</i>	158
Tableau 47 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'allaitement en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène <i>BRCA2</i>	159
Tableau 48 : Variation du risque de cancer du sein associé aux grossesses interrompues en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène <i>BRCA1</i>	160
Tableau 49 : Variation du risque de cancer du sein associé aux grossesses interrompues en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène <i>BRCA2</i>	161
Tableau 50 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'utilisation de traitements hormonaux substitutifs en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène <i>BRCA1</i>	162

Tableau 51 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'utilisation de traitements hormonaux substitutifs en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène <i>BRCA2</i>	163
Tableau 52 : Variation du risque de cancer du sein associé aux grossesses menées à terme en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène <i>BRCA1</i>	165
Tableau 53 : Variation du risque de cancer du sein associé aux grossesses menées à terme en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène <i>BRCA2</i>	166
Tableau 54 : Variation du risque de cancer du sein associé au statut ménopausique en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène <i>BRCA1</i>	168
Tableau 55 : Variation du risque de cancer du sein associé au statut ménopausique en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène <i>BRCA2</i>	169
Tableau 56 : Variation du risque de cancer du sein en fonction de la localisation des mutations dans le gène <i>BRCA1</i> dans la littérature	183
Tableau 57 : Distribution des mutations dans la cohorte GENEPSO	239

Liste des figures

Figure 1 : Structure du sein vu en coupe sagittale.....	27
Figure 2 : Nombre de cas de cancer incidents et nombre de décès par cancer estimés chez la femme en France [14]	30
Figure 3 : Incidence de cancer du sein et mortalité estimées entre 1980 et 2005 et projections pour 2010 d'après Belot <i>et al.</i> [14,15]	31
Figure 4 : Eléments et humeurs considérés par la théorie des humeurs.....	33
Figure 5 : Image mammaire telle que visualisée à la mammographie (A) et par le programme Cumulus lors de la mesure de la densité mammaire (figure empruntée à Brisson <i>et al.</i> [36])	35
Figure 6 : Association entre la densité mammaire et le risque relatif de cancer du sein (figure empruntée à Brisson <i>et al.</i> [36])	37
Figure 7 : Gènes impliqués dans l'augmentation du risque de cancer du sein dans des familles à haut risque de cancer du sein.....	46
Figure 8 : Loci et gènes de prédisposition au cancer du sein (Foulkes <i>et al.</i> [104]).....	47
Figure 9 : Représentation schématique du gène <i>BRCA1</i> , de ses domaines fonctionnels et de ses domaines de liaison protéique	52
Figure 10 : Représentation schématique du gène <i>BRCA2</i> , de ses domaines fonctionnels et de ses domaines de liaison protéique	54
Figure 11 : Variation du risque de cancer du sein en fonction de la localisation des mutations dans le gène <i>BRCA1</i> dans la littérature	59
Figure 12 : Variation du risque de cancer du sein en fonction de la localisation des mutations dans le gène <i>BRCA2</i> dans la littérature	60
Figure 13 : Estimation du risque cumulé de cancer du sein des femmes porteuses d'une mutation du gène <i>BRCA2</i> en fonction de la combinaison génotypique de 7 SNPs à risque ; figure empruntée à Antoniou <i>et al.</i> [188].....	63
Figure 14 : Illustration des variables générées pour étudier la durée cumulée d'utilisation de contraceptif au cours de la vie, et le temps écoulé depuis le dernier traitement contraceptif ..	77
Figure 15 : Illustration des variables générées pour étudier la consommation de tabac au cours de la vie	79
Figure 16 : Illustration des variables générées pour étudier l'exposition thoracique aux rayons X au cours de la vie	81
Figure 17 : Illustration de la méthode de censure	83
Figure 18 : Illustration du biais de temps immortel	87
Figure 19 : Illustration de la distribution des 10 000 $\ln(HR_{sim_i})$	95
Figure 20 : Exemple illustrant le TMAP	124
Figure 21 : Distribution des cas et des témoins en fonction de la localisation de leur mutation dans le gène <i>BRCA1</i>	136
Figure 22 : Distribution des cas et des témoins en fonction de la localisation de leur mutation dans le gène <i>BRCA2</i>	136
Figure 23 : Régions homogènes dans les gènes <i>BRCA1</i> et <i>BRCA2</i> définie dans la cohorte GENEPSO	147
Figure 24 : Variation du risque de cancer du sein en fonction de la localisation des mutations dans le gène <i>BRCA1</i> dans la littérature et dans la cohorte GENEPSO	182
Figure 25 : Variation du risque de cancer du sein en fonction de la localisation des mutations dans le gène <i>BRCA2</i> dans la littérature et dans la cohorte GENEPSO	184
Figure 26 : Schéma du gène <i>BRCA2</i>	186
Figure 27 : Principales étape de la fabrication d'une protéine à partir d'un gène.....	222

PUBLICATIONS RELATIVES A LA THESE

ARTICLES

Variation in breast cancer risk associated with factors related to pregnancies according to truncating mutation location, in the French National and *BRCA2* mutations carrier cohort (GENEPSO). Lecarpentier J, Nogues C, Mouret-Fourme E, Gauthier-Villars M, Lasset C, Fricker JP, Caron O, Stoppa-Lyonnet D, Berthet P, Faivre L, Bonadona V, Buecher B, Coupier I, Gladieff L, Gesta P, Eisinger F, Frenay M, Luporsi E, Lortholary A, Colas C, Dugast C, Longy M, Pujol P, Tinat J, Lidereau R, Andrieu N. *Breast Cancer Res*, 2012, 14(4):R99.

Variation in breast cancer risk with mutation position, smoking, alcohol, and chest Xray history, in the French National *BRCA1/2* carrier cohort (GENEPSO). Lecarpentier J, Nogues C, Mouret-Fourme E, Stoppa-Lyonnet D, Lasset C, Caron O, Fricker JP, Gladieff L, Faivre L, Sobol H, Gesta P, Frenay M, Luporsi E, Coupier I, Lidereau R, Andrieu N. *Breast Cancer Res Treat*, 2011, 130(3):927-938.

COMMUNICATIONS ORALES

Variation du risque de cancer du sein associé aux facteurs liés aux grossesses dans la cohorte GENEPSO (porteuses de mutation sur les gènes *BRCA1/2*) : mise en évidence d'une interaction entre parité et localisation de la mutation. Lecarpentier J. 6èmes Assises de Génétique Humaine et Médicale, 02-04/02/2012 - Marseille, France

Variation du risque de cancer du sein dans la cohorte GENEPSO (cohorte française de porteurs de mutations sur les gènes *BRCA1* et *BRCA2*). Lecarpentier J. 5èmes Assises de Génétique Humaine et Médicale, 30/01/2012 - Strasbourg, France

Variation du risque de cancer du sein associé aux grossesses et à l'allaitement en fonction du type et de la localisation des mutations dans les gènes *BRCA1/2*, dans la cohorte GENEPSO (porteuses de mutation sur les gènes *BRCA1/2*). Lecarpentier J, Noguès C, Mouret-Fourme E, Gauthier-Villars M, Lasset C, Fricker JP, GENEPSO, Lidereau R, Andrieu N. Epiclin, 09-11/05/2012, Lyon, France

POSTERS

Etude de cohorte française sur l'ataxie télangiectasie (CoF-AT) : 2003-2012, état d'avancement et premiers résultats. Cavaciuti E, Barre A, Lecarpentier J, Labbé M, Dondon MG, Dubois d'Enghien C, Laugé A, Combès A, Coupier I, Janin N, Bay JO, Hall J, Stoppa-Lyonnet D, Andrieu N. 6èmes Assises de Génétique Humaine et Médicale, 02-04/02/2012 - Marseille, France

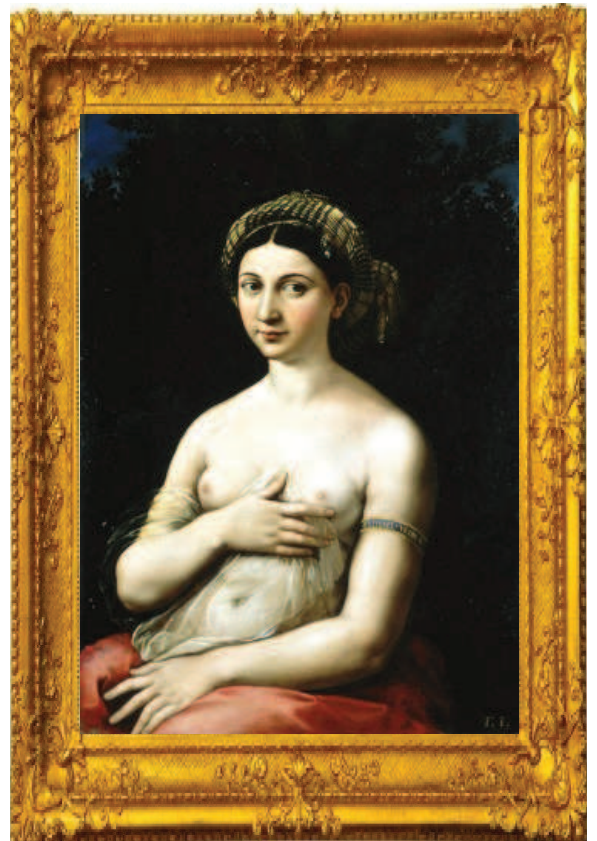
Effect Of Reproductive Factors And Body Mass Index On The Mutation Localization-Specific Risk Of Breast Cancer In The French National *BRCA1/2* Carrier Cohort (GENEPSO). Lecarpentier J, Nogues C, Mouret-Fourme E, Stoppa-Lyonnet D, Lasset C, Carron O, Fricker JP, Gladieff L, Faivre L, Sobol H, Gesta P, Frenay M, Luporsi E, Coupier I, GENEPSO study, Lidereau R, Andrieu N. Annual meeting of the International Genetic Epidemiology Society, Heidelberg, Germany, 18-20/09/2011, *Genetic Epidemiology* 36(2):156-157

Variation of Breast Cancer Risk in the French National *BRCA1/2* Carrier Cohort (GENEPSO). Lecarpentier J, Noguès C, Mouret-Fourme E, Lidereau R, Andrieu N. Eighteenth annual meeting of the International Genetic Epidemiology Society, 18-20/10/2009 - Kahuku, Hawaii, United States, 2009, *Genetic epidemiology* 33(8):819

Chapitre I : Introduction



Bethsabée au bain de Rembrandt (1654)



Fornarina de Raphaël (1520)



Vanitas de Nicolas Régnier (1626)

I. Le cancer du sein dans l'histoire

Connu depuis au moins 1600 avant JC, puisque décrit dans le papyrus d'Edwin Smith et Ebers, le cancer est une pathologie redoutée depuis longtemps. Ce sont d'ailleurs les prêtres d'Esculape et Hippocrate qui l'ont nommée ainsi, le mot cancer dérivant du grec *Karkinos* et du latin *Cancros* qui signifient crabe. Ce terme de cancer fait penser à la bête carapacée qui plante ses pattes et ses pinces dans la chair vive, provoquant des douleurs rongeantes et lancinantes comparables à celles provoquées par le cancer. Une seconde version de l'origine étymologique de ce terme se base plus sur l'aspect du cancer, qui lorsqu'il est très évolué et que les veines courent autour de la tumeur devient comparable au crabe et à ces pattes.

Comme le montre cette citation de l'Abbé Chomel en 1709 : « Le cancer se jette plus volontiers aux mamelles à cause de leur faiblesse, qu'elles sont vuides (vides en vieux français) et fort délicates », le sein a été très rapidement considéré comme l'une de ces cibles privilégiées [1].

D'ailleurs, le cancer du sein est également présent dans l'art de la peinture. En effet, Raphaël avec Fornarina en 1520 ainsi que Rembrandt avec une Bethsabée au bain en 1654 ont peint des femmes ayant une adénopathie axillaire. On peut également citer une allégorie du temps qui passe, Vanitas, peinte en 1626 par Nicolas Régnier, représentant Chronos et une jeune femme au sein gauche dénudé manifestement atteinte d'un cancer.

II. Anatomie de la glande mammaire

La constitution anatomique du sein, qui contrairement à ce qu'affirmait l'Abbé Chomel est loin d'être « vuide », est connue depuis longtemps comme en témoigne ce texte de Guillaume de Houppeville, chirurgien de la fin du XVII^e siècle : *« j'ai donc considéré très exactement et plus d'une fois la composition de la mamelle ; et j'ai vu qu'elle n'était pas qu'un corps composé de graisse et de plusieurs glandes presque ovales. [...] Ces glandes sont destinées à séparer les parties laiteuses de la masse du sang, à les garder dans leurs pores, et à les laisser couler par leurs conduits excrétoires dans les canaux où le lait s'amasse, jusqu'à ce que par le sucement de l'enfant il sorte par plusieurs petits tuyaux, qui aboutissent au mamelon »* [1]

Aujourd'hui, grâce aux fantastiques progrès de la science et de la technologie, l'anatomie du sein est mieux connue et plus précise. On décrit la glande mammaire comme une glande exocrine, paire et lobulée, de morphologie très variable selon le sexe et la phase de la vie génitale. Chez la femme, elle se développe dès le début de la puberté et constitue une masse de tissu glandulaire de forme grossièrement circulaire située à la face antérieure de la partie externe du muscle grand pectoral.

Elle est formée de 15 à 20 lobes, qui sont séparés entre eux par du tissu graisseux et des bandes de tissu conjonctif, appelées ligaments de Cooper, qui contribuent au soutien du sein, avec la peau (*cf.* Figure 1). Les lobes, sont quant à eux subdivisés en lobules et alvéoles (élément synthétiseur et sécréteur de lait). Les alvéoles sont groupés autour de canaux alvéolaires qui aboutissent à un canal lobulaire drainant un lobule. Plusieurs canaux lobulaires forment un canal galactophore qui s'abouche dans un conduit lactifère. L'ensemble des lobules drainés par un conduit lactifère forme un lobe glandulaire. Les conduits lactifères convergent pour s'ouvrir au sommet du mamelon.

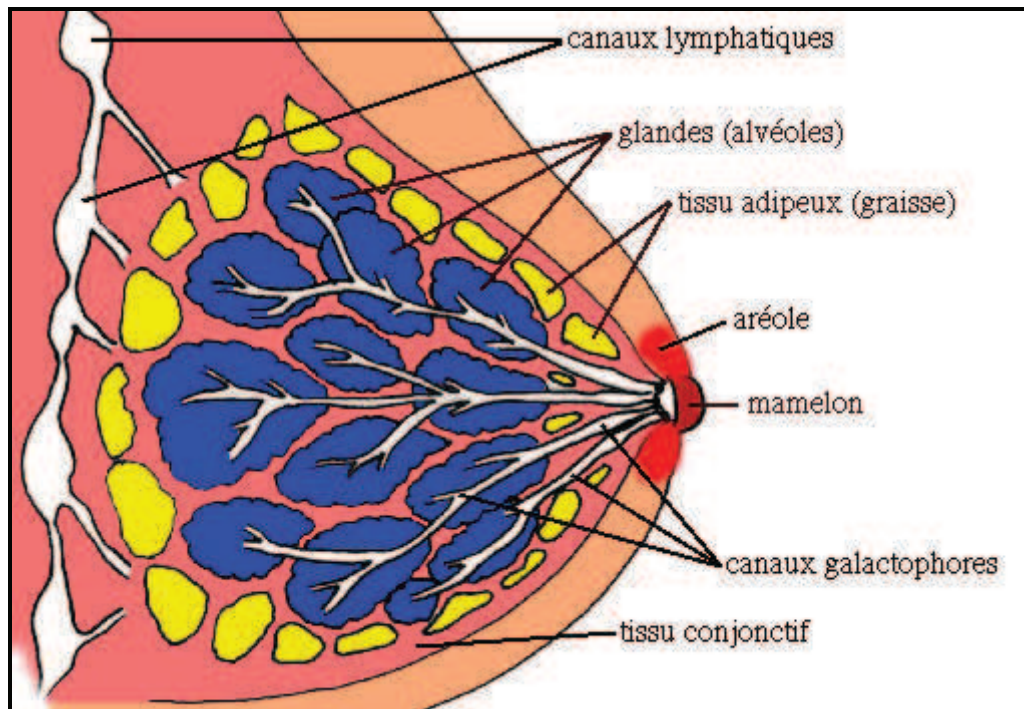


Figure 1 : Structure du sein vu en coupe sagittale

De la puberté à la ménopause, lors de chaque cycle menstruel de la femme, les seins réagissent aux variations hormonales. Le développement final des seins se produit lors d'une grossesse. Ce n'est qu'à ce moment qu'ils atteindront leur maturité. Pendant la grossesse, sous l'influence des œstrogènes et de la progestérone produits par le placenta, les canaux galactophores s'allongent et se ramifient et les lobules se développent pour produire le lait.

III. Le cancer du sein

Les caractéristiques cliniques du cancer du sein sont dépeintes depuis la plus haute Antiquité, et tout particulièrement en ce qui concerne les formes évoluées et très évoluées. Certaines descriptions brossent des tableaux particulièrement horribles parlant notamment de « putréfaction cadavérique portée par une vivante ». Hippocrate distinguait deux types de tumeurs : le *squirrhus*, encore curable et le *carcinoma* qui ne pouvait que s'étendre jusqu'à la mort [1].

Aujourd'hui, on sait que parmi les différents types de cancers du sein, les adénocarcinomes sont les plus courants (95%). Les cancers du sein se développent à partir des canaux (cancers canaux) et des lobules (cancers lobulaires) de la glande mammaire. Ils sont dits « *in situ* » lorsque les cellules cancéreuses sont confinées aux canaux et lobules, et « infiltrants » lorsque les cellules cancéreuses sont présentes dans les tissus qui les entourent. Dans ce dernier cas, les cellules malignes se propagent éventuellement dans les ganglions situés sous les bras

(ganglions axillaires) et dans l'organisme. Cette atteinte ganglionnaire est décrite depuis au moins le V^e siècle, puisque Flavius Aetius (v. 395-454) décrit la présence de « boule » dans l'aisselle accompagnant le cancer. Au XVIII^e, siècle le chirurgien Henri-François Le Dran (1695-1770) notait que l'évolution du cancer du sein était d'autant plus sévère que la maladie atteignait les ganglions lymphatiques [1]

Dès le V^e siècle avant JC, des descriptions poussées exposent clairement les caractéristiques des cancers, leur dureté, leur irrégularité. Guy de Chauliac (1298-1368), chirurgien des papes d'Avignon, décrira également les tumeurs en fonction de leur virulence [1]. Aujourd'hui, les médecins diagnostiquent le cancer du sein et le classent morphologiquement à partir de l'analyse de certains critères : type histologique, taille de la tumeur, éventuel envahissement ganglionnaire, analyse de la présence de récepteurs hormonaux (œstrogènes et/ou progestérone), surexpression de la protéine HER2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor-2).

Les récepteurs aux œstrogènes (RE) et les récepteurs à la progestérone (RP) sont des protéines que l'on retrouve entre autres dans la glande mammaire. Elles font partie d'une superfamille de protéines régulatrices de l'expression des gènes qui sont des facteurs de transcription dépendant de leur liaison à un ligand [2]. Dans les cancers du sein, l'expression des RE et RP est indépendante : ils peuvent chacun être exprimés ou non. La présence de récepteurs hormonaux constitue un facteur pronostique : l'absence d'expression des RE est le témoin d'une entité biopathologique associée à un pronostic évolutif péjoratif [3,4]. De plus, la présence de RE ainsi que la présence de RP constituent des facteurs prédictifs importants puisque la réponse aux thérapies antihormonales (traitements anti-œstrogènes et traitements anti-aromatase, qui constituent un type de traitement important du cancer du sein) est étroitement liée à la présence des récepteurs hormonaux [3,5].

Depuis plus de dix ans, le développement continu de nouvelles technologies d'analyse à haut débit a permis d'étudier les altérations de la structure de l'ADN (amplification, délétion, gain), les pertes d'hétérozygotie et les altérations du niveau d'expression des gènes des carcinomes. Ainsi au début des années 2000, Perou *et al.* [6] et Sorlie *et al.* [7] subdivisent les cancers du sein en sous-groupes selon leur profil d'expression génique et définissent plusieurs sous-types de tumeurs différentes d'un point de vue transcriptionnel et pronostique. Ces sous-types sont fortement reliés à l'expression des récepteurs hormonaux aux œstrogènes et à la progestérone et à la surexpression de la protéine HER2, critères utilisés jusqu'alors pour classer les différentes tumeurs. Ils ont individualisé tout d'abord deux groupes principaux en fonction de l'expression des récepteurs aux œstrogènes (RE⁺ ou RE⁻). Ils ont identifié quatre

types de carcinomes en les comparant au tissu normal : RE⁺/luminal, basal-like, Erb-B2 et normal-like.

Aujourd'hui, quatre sous-types de tumeurs sont bien individualisés : luminal, basal-like, HER2⁺ et normal-like.

Les tumeurs de type basal ou basal-like sont caractérisées par l'expression de gènes identiques à ceux exprimés par des lignées de cellules myoépithéliales (ou basales) du sein normal. Ces tumeurs ont un phénotype particulier : elles n'expriment pas de récepteurs aux œstrogènes (RE⁻), elles ne sur-expriment pas la protéine HER2 (HER2⁻), et expriment au moins un marqueur de cellules basales [8,9]. Ces tumeurs, en majorité, n'expriment pas de récepteur à la progestérone (RP⁻). Par extension, on parle de tumeurs « triple négatives » qui sont RE⁻, RP⁻ et HER2⁻ et qui comprennent un grand nombre de tumeurs de type basal. Il n'y a toutefois pas de superposition complète entre ces deux groupes. Ces tumeurs « triple négatives » ont un pronostic particulièrement mauvais.

Les tumeurs de type HER2 regroupent toutes les tumeurs HER2⁺ quelle que soit leur expression des récepteurs hormonaux. Leur pronostic est défavorable.

Les tumeurs de type luminal regroupent tumeurs RE⁺ dont l'expression génique est proche de celle des cellules épithéliales luminales. Certaines études distinguent deux groupes : luminal A avec le pronostic le plus favorable et luminal B avec un pronostic moins bon que celui du groupe luminal A [7].

Certaines études isolent d'autres sous-types inconstamment identifiés : les baso-luminal et les normal-like dont l'expression génique est proche de celle du tissu mammaire normal. Le phénotype des tumeurs de ce sous-type n'est pas décrit. Leur pronostic est intermédiaire. Il reste environ 10 à 15% de tumeurs non classées n'appartenant pas aux groupes précédemment décrits.

Les différents types de tumeurs ne répondent pas de la même façon aux traitements [10]. Ces paramètres permettent ainsi de distinguer les types tumoraux et ensuite de déterminer le traitement le plus adapté pour la patiente. Cependant, il reste une certaine hétérogénéité au sein même de certains sous-types.

IV. Épidémiologie descriptive du cancer du sein

Jusqu'au début du XX^e siècle, le cancer du sein avait une fréquence deux fois moindre que celle du col de l'utérus. En effet, Stanislas Tanchou entre 1830 et 1840 relève, à Paris, 2996 décès liés à des cancers de l'utérus et 1147 à celui du sein (Maison royale de santé de

l'Administration générale des hôpitaux et hospices de Paris). Dans les années 1940, avec l'amélioration de l'hygiène, la diminution du nombre de grossesses et la mise en place du dépistage des cancers du col de l'utérus, le cancer du sein prend la première place en termes de cancer féminin, devenant le premier responsable des morts prématurées chez la femme. [1]

Aujourd'hui, le sein constitue la première localisation de cancer chez la femme en France et dans la plupart des pays industrialisés [11-13] tant en termes de mortalité qu'en termes d'incidence. (cf. Figure 2)

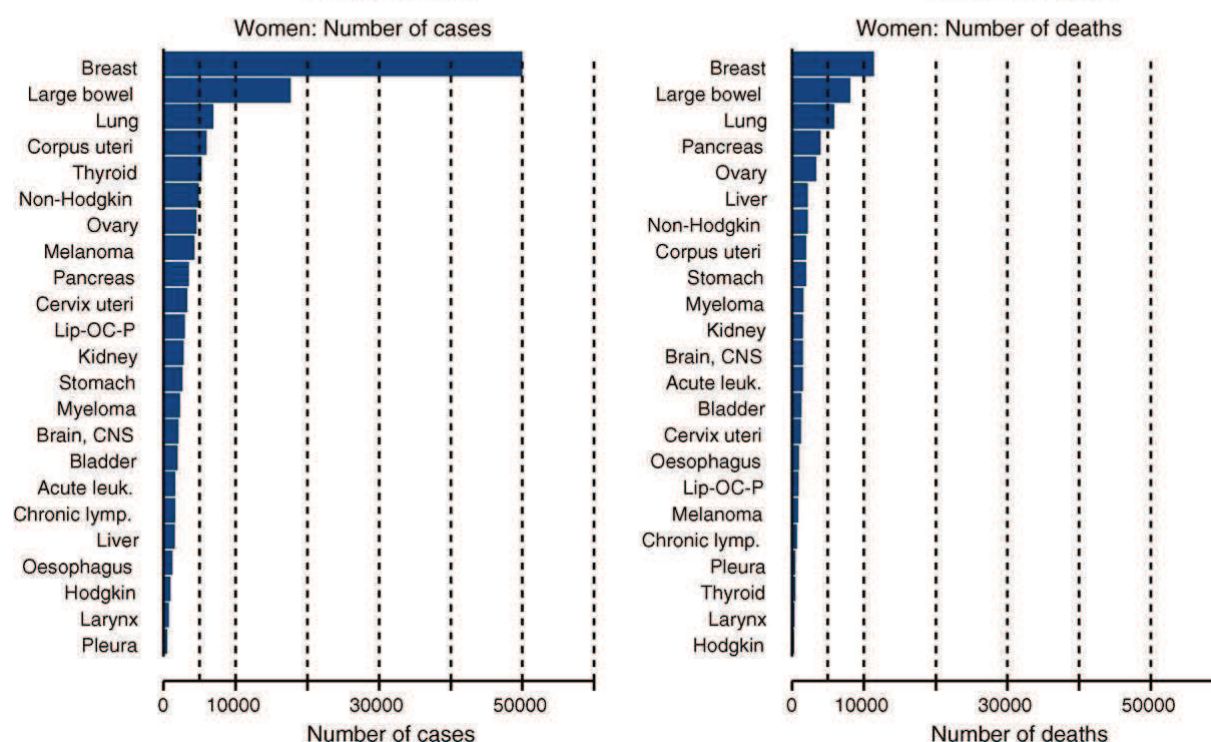


Figure 2 : Nombre de cas de cancer incidents et nombre de décès par cancer estimés chez la femme en France [14]

En France, 49 814 nouveaux cas de cancer du sein ont été dénombrés en 2005. Ils représentent 36,7% de l'ensemble des nouveaux cas de cancers chez la femme. Le taux d'incidence standardisé est de 101,5 pour 100 000 femmes et le taux de mortalité standardisé de 17,7 pour 100 000 femmes. Avec 11 201 décès par an, le cancer du sein est au 1er rang des décès par cancer chez la femme (18,9%).

L'incidence du cancer du sein augmente de façon importante et constante depuis 25 ans : le taux d'incidence standardisé a presque doublé, passant de 56,8 pour 100 000 femmes en 1980

à 101,5 pour 100 000 femmes en 2005. Le taux d'évolution¹, en moyenne de 2,4% par an entre 1980 et 2005, est cependant légèrement moins important sur la dernière période, entre 2000 et 2005 (+ 2,1 % par an). (cf. Figure 3)

La mortalité, qui était restée stable depuis 1980, amorce une décroissance en 2000 : le taux d'évolution annuel de la mortalité est de -0,4 % sur l'ensemble de la période 1980-2005 alors qu'il est de -1,3 % sur la dernière période 2000-2005.

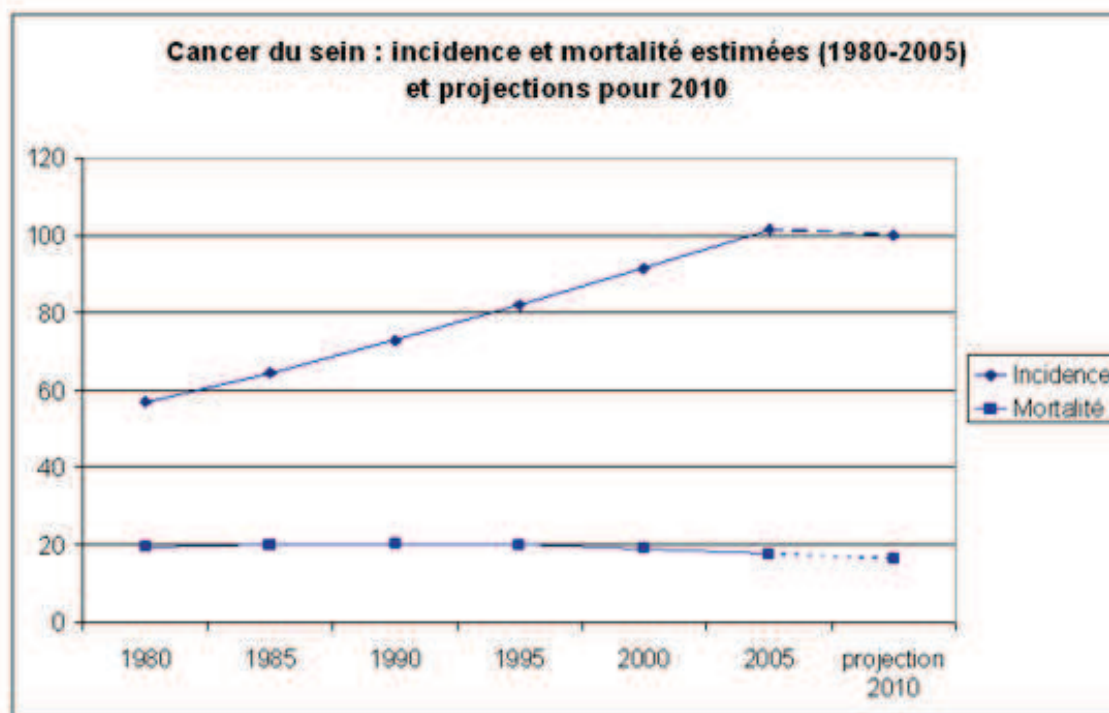


Figure 3 : Incidence de cancer du sein et mortalité estimées entre 1980 et 2005 et projections pour 2010 d'après Belot *et al.* [14,15]

Les évolutions inverses de la mortalité et de l'incidence du cancer du sein peuvent s'expliquer en partie par l'amélioration des thérapeutiques et le diagnostic plus précoce lié au développement du dépistage généralisé en France, sans que leur part respective puisse être précisée.

Cependant, selon des projections qui font l'hypothèse d'une stabilisation de l'évolution, le taux d'incidence standardisé à la population mondiale est estimé à 100 cas pour 100 000 femmes en 2010 [16]. L'hypothèse de stabilisation du risque, retenue pour fournir les projections 2010, est basée sur des données épidémiologiques et médico-administratives [17,18] qui décrivent une diminution de l'incidence du cancer du sein depuis 2005 en France. Cette diminution

¹ Le taux d'évolution permet de quantifier l'évolution d'une grandeur numérique entre deux dates. Si cette grandeur passe d'une valeur de départ VD à une valeur d'arrivée VA, le taux d'évolution est donné en pourcentage par la formule : $p = \frac{VA - VD}{VD} \times 100$

serait potentiellement liée à une diminution de la prescription des Traitements Hormonaux Substitutifs (THS) de la ménopause. Un infléchissement de la hausse de l'incidence pourrait donc être observé sur la période projetée 2006-2010. Malgré cette hypothétique stabilisation de l'incidence du cancer du sein, le cancer du sein reste un problème majeur de santé publique.

Le cancer du sein est un cancer de bon pronostic avec une survie à 5 ans supérieure à 80%. Tous stades confondus, les taux de survie relative du cancer du sein à 1, 3 et 5 ans sont respectivement de 97%, 90% et 85%, selon une étude des registres du réseau Francim portant sur la période 1989-1997 [15]. Détecté à un stade précoce, la survie relative à 5 ans est supérieure à 90%.

Dans l'étude Eurocare, qui s'intéresse à la survie des cas diagnostiqués entre 1995 et 1999 dans 23 pays européens (83 registres, 2,7 millions de cas de cancers inclus), la France affiche un taux de survie relative à 5 ans de 82,7% et se situe au-dessus de la moyenne européenne (79,5%) [19].

Enfin, l'étude mondiale publiée dans le Lancet Oncology portant sur 1,9 million de cas dans 31 pays (101 registres) et diagnostiqués entre 1990 et 1994, classe la France au septième rang mondial avec un taux de survie à 5 ans du cancer du sein estimé à 79,8% [20].

V. Facteurs de risque du cancer du sein

Pendant très longtemps, la maladie a été considérée comme une punition du ciel. La médecine faisait alors intervenir le surnaturel. Le médecin faisait alors plutôt figure de prêtre intercédant auprès du ciel pour obtenir la guérison. C'est après qu'Hippocrate répudia la magie et les superstitions, que naquit la théorie des humeurs s'inspirant des quatre éléments : le feu, l'air, la terre et l'eau. L'école hippocratique distinguait quatre humeurs : le sang, le phlegme ou lymphe, la bile jaune et l'atrabile ou bile noire (*cf.* Figure 4).

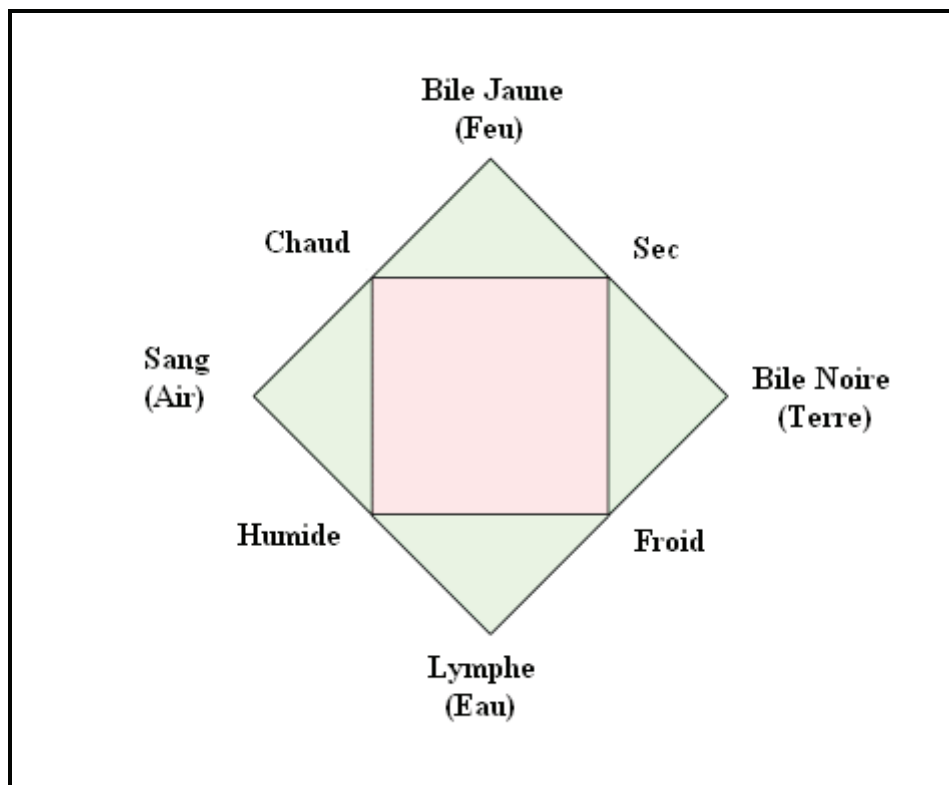


Figure 4 : Eléments et humeurs considérés par la théorie des humeurs

Dans cette théorie, c'est l'équilibre des humeurs qui assure une bonne santé. Si l'une d'elles l'emporte sur les autres, l'individu devient « sanguin », « phlegmatique », « bilieux » ou « mélancolique ». Ainsi pour Hippocrate et son école, le cancer était une maladie systémique provoquée par la corruption du sang par la bile noire. Cette théorie sera remise en cause plusieurs fois et notamment au cours du XVII^e siècle avec la découverte de la circulation sanguine par William Harvey (1578-1657). Cette théorie ne sera définitivement abandonnée que lorsqu'en 1751, Jean Astruc (1684-1766), médecin de Louis XV, prit un morceau de cancer du sein ainsi qu'un morceau de bœuf qu'il fit cuire, puis goûta. Ne détectant aucune différence de goût, il conclut qu'il n'y avait pas de bile dans le morceau de cancer [1].

La science moderne a sans doute définitivement relégué la grande majorité des vieilles théories de nos prédécesseurs concernant la carcinogénèse. Cependant, un certain nombre de facteurs de risque ont été évoqués il y a déjà quelques siècles.

A. Facteurs gynéco-obstétriques

Le rôle des facteurs gynéco-obstétriques dans le cancer du sein est évoqué de façon indirecte depuis fort longtemps. En effet, une fréquence de cancer du sein particulièrement élevée a été observée chez les nonnes. Françoise de Motteville (1621-1689), dame de compagnie d'Anne d'Autriche, raconte que cette dernière fut fort surprise par la découverte de son cancer du sein,

maladie qu'elle attribuait plus volontiers aux nonnes « *qui en étaient toutes pourries* » [21]. Bernardino Ramazzini (1633-1714), précurseur de la notion de maladies professionnelles, est l'un des premiers à confirmer cette grande fréquence chez les bonnes sœurs. Il met d'ailleurs en cause le célibat dont les nonnes ont fait vœu dans cette plus grande propension à développer la maladie : « [...] *les religieuses qui sont plus sujettes à ces maladies que les autres femmes, non à cause de la suppression de leur règles, mais plutôt à cause du célibat dont elles ont fait vœu. J'ai souvent vu de ces filles célibataires au visage rose, occupées à contenir et à étouffer leur désir, mourir de cancers affreux quoique leurs règles aient coulé régulièrement.* » [22]. En 1842, Domenico Rigoni-Stern (1810-1855) confirmait la plus grande fréquence du cancer du sein, non seulement chez les religieuses, mais également chez les célibataires [23].

Aujourd'hui, il est reconnu de façon consensuelle que le cancer du sein est un cancer hormono-dépendant [24] et que le cancer du sein s'explique par l'imprégnation hormonale de la femme au cours de sa vie. La durée d'exposition aux hormones endogènes, en particulier celles produites par l'ovaire, a une influence sur le risque de survenue d'un cancer du sein. En l'occurrence, les données expérimentales montrent que les œstrogènes jouent un rôle dans le développement et la croissance du cancer du sein par des mécanismes qui n'ont pas été complètement élucidés [25]. En effet, les œstrogènes peuvent induire des dommages sur l'ADN [26] et exercer des effets prolifératifs directs et indirects sur les cellules cancéreuses [27].

1. Age aux premières règles et à la ménopause

Les règles et la ménopause ont depuis longtemps été évoquées comme étant impliquées dans le cancer du sein. Selon Claude Deshaies-Gendron (1663-1750), « *les Anciens ont remarqué qu'après la suppression des « mois » dans la femme, il leur survenait au sein des tumeurs carcinomateuses et ils ont avancé qu'en leur provoquant ces évacuations, les tumeurs se dissipaient* » [28]. Par ailleurs, en 1896, George Thomas Beatson observe la régression d'un cancer du sein après castration chez deux femmes de 33 et 40 ans et conclut : « *nous devons constater que chez la femme les ovaires sont le siège d'une cause favorisant la survenue du cancer* » [29]. Le rôle des œstrogènes est ensuite confirmé par Antoine Lacassagne en 1930 [1].

Plus récemment, en ce qui concerne la population générale, de nombreuses études montrent que la survenue des premières règles avant l'âge de 12 ans augmente le risque de cancer du sein [30,31,31,31]. En effet, l'âge aux premières règles détermine le moment où les ovaires

commencent à fabriquer les hormones stéroïdiennes (œstrogène et progestérone) et ce, jusqu'à la ménopause où cette production cesse. Un âge tardif à la ménopause est également un facteur de risque reconnu du cancer du sein [32]. Chez les femmes ménopausées, l'âge à la ménopause est associé à une augmentation du risque de cancer de 3% par année supplémentaire [33]. Le fondement biologique de ces associations correspond à l'exposition précoce et prolongée à l'imprégnation hormonale qui existe durant la période d'activité des ovaires.

Il semblerait également que la durée des cycles de la femme ainsi que leur régularité constituent aussi un facteur de risque ; des cycles courts et réguliers pourraient augmenter le risque de cancer du sein [34,35].

2. Densité mammaire

L'image du sein à la mammographie comprend deux zones. Une partie du sein paraît dense. Il s'agit de la région en blanc sur la Figure 5A ou de celle en vert sur la Figure 5B. Cette partie dense est composée principalement de tissus épithéliaux et conjonctifs. Par ailleurs, une autre partie du sein paraît non dense. La partie dite non dense, en gris foncé sur la Figure 5A et en rouge sur la Figure 5B, est composée essentiellement de tissu adipeux [36].

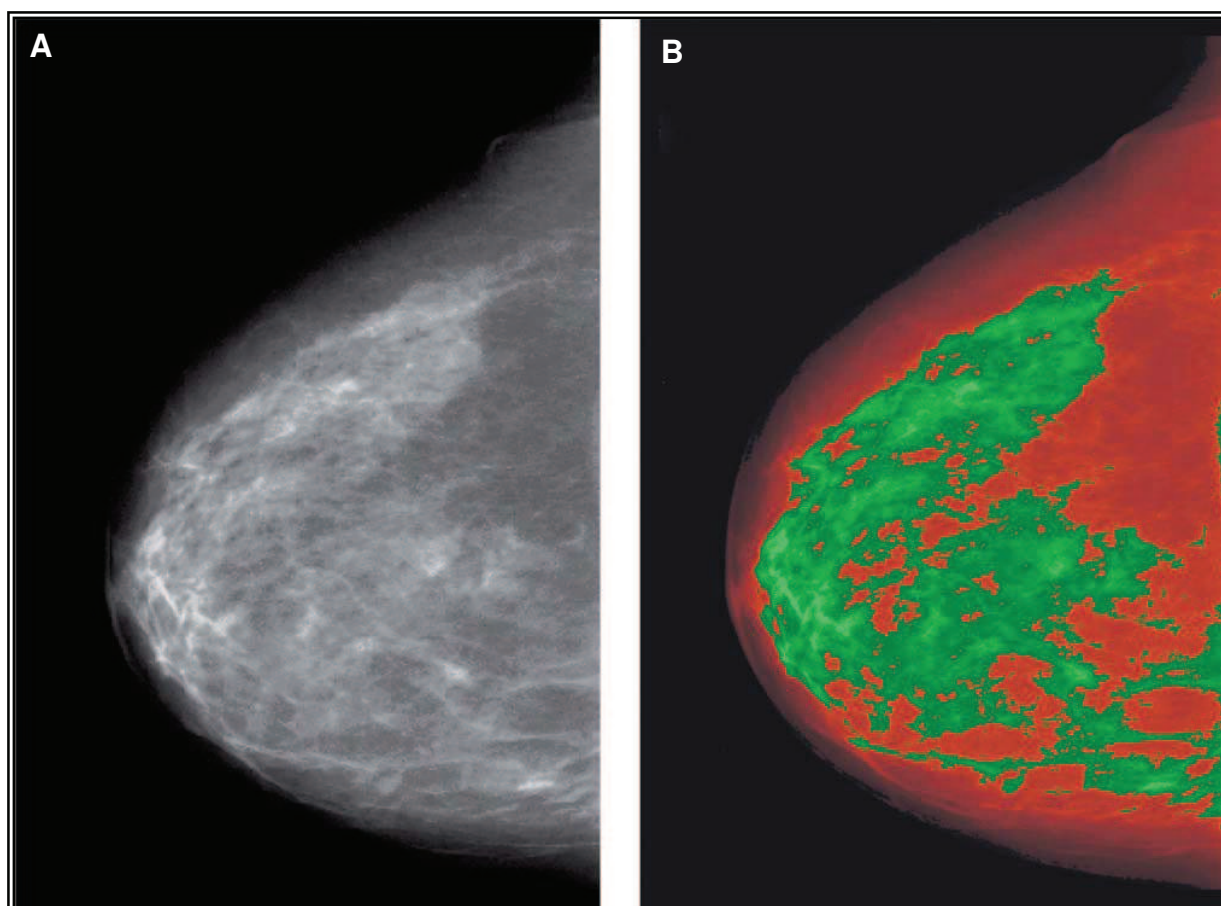


Figure 5 : Image mammaire telle que visualisée à la mammographie (A) et par le programme Cumulus lors de la mesure de la densité mammaire (figure empruntée à Brisson *et al.* [36])

Il y a maintenant 30 ans, John Wolfe, un radiologiste de Detroit, a été le premier à montrer que les femmes avec des seins très denses à la mammographie avaient un risque beaucoup plus élevé de cancer du sein que celles avec des seins moins denses [37]. Boyd *et al.* [38] et Brisson *et al.* [39] ont été les premiers à suggérer que le pourcentage du sein contenant des tissus épithéliaux et conjonctifs était la meilleure façon de mesurer la densité mammaire. Aujourd'hui le terme « densité mammaire » se réfère en général à ce pourcentage.

De nombreuses recherches ont maintenant établi que le risque de cancer du sein augmente progressivement avec la densité mammaire et que ce risque est 4 à 6 fois plus élevé chez les femmes avec 75 % ou plus de densité mammaire comparées aux femmes qui ont peu ou pas de densité mammaire [38,40] et que ce risque accru persiste jusqu'à 10 ans suivant l'évaluation de la densité mammaire [41,42]. La Figure 6 illustre la relation entre la densité mammaire et le risque relatif de cancer du sein obtenue en regroupant les données de trois études cas-témoins réalisées par Brisson *et al.* [40].

Le fondement cellulaire du lien entre la densité mammaire et le risque de cancer du sein commence à être élucidé. Brisson *et al.* [43] et Boyd *et al.* [38] montrent que la densité mammaire est associée à la densité et à la prolifération cellulaire des tissus épithéliaux et conjonctifs. Ces travaux suggèrent donc l'hypothèse que la densité mammaire pourrait être associée au risque de cancer du sein parce que la densité mammaire est un indicateur à la fois du nombre de cellules mammaires à risque de transformation cancéreuse et du degré de prolifération de ces cellules qui elle-même augmente les chances d'accidents génétiques menant à la transformation cancéreuse.

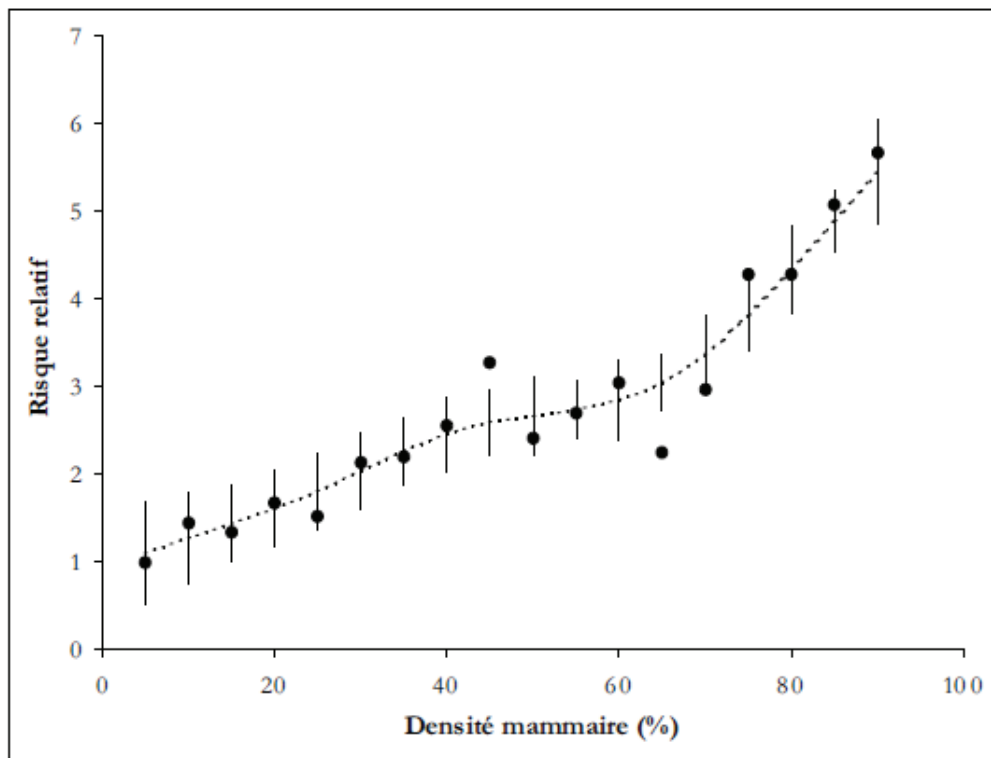


Figure 6 : Association entre la densité mammaire et le risque relatif de cancer du sein (figure empruntée à Brisson *et al.* [36])

3. Grossesses menées à terme

De façon générale, les femmes qui ont mené au moins une grossesse à terme avant l'âge de 30 ans présentent un risque de cancer du sein diminué par rapport aux femmes nullipares [32]. L'effet protecteur de la multiparité semble augmenter proportionnellement au nombre d'accouchements. En effet, Chapelon et Gerber montrent que chaque grossesse additionnelle menée à terme diminue le risque de cancer de 3% pour les cancers du sein précoces ou intervenant avant la ménopause, et de 12% pour les cancers du sein tardifs ou intervenant après la ménopause [31]. Toutefois, la période reproductive semble avoir un double effet puisque le risque est accru immédiatement après l'accouchement, puis diminue graduellement [44,45]. En effet, Bruzzi *et al.* [46] ont retrouvé que le risque de cancer du sein est augmenté pendant 10 ans après une grossesse avec un risque relatif de 2 à 3 dans les trois premières années suivant une naissance. Lambe *et al.* [44] ont également retrouvé cette élévation transitoire du risque avec secondairement un effet protecteur. Cette augmentation transitoire du risque de cancer du sein aboutit à un effet protecteur tardif des grossesses menées à terme, c'est-à-dire après l'âge de 40 à 50 ans selon les études [44,47,48]. La grossesse provoque une différenciation accélérée du tissu mammaire et une prolifération rapide de l'épithélium. Les changements amorcés au cours de la première grossesse, en particulier si elle est survenue précocement, sont accentués par chacune des grossesses ultérieures, et le développement du

cancer du sein est lié à la vitesse de prolifération des cellules épithéliales mammaires et inversement au degré de différenciation [49]. Ainsi, plus l'âge au premier enfant est précoce, plus les femmes bénéficient de la période de protection induite par la différenciation des cellules épithéliales glandulaires, celles-ci devenant alors moins sensibles aux actions des cancérogènes [50]. Albrektsen *et al.* [51] montrent une diminution du risque de cancer du sein plus importante chez les femmes ayant eu leur première grossesse menée à terme avant l'âge de 20 ans. Par ailleurs, l'augmentation de la fréquence des cancers du sein observée juste après une grossesse serait par contre liée à une stimulation hormonale de la croissance tumorale de cancers déjà existants [44].

4. Allaitement

L'effet protecteur de l'allaitement est suspecté depuis longtemps. Ainsi Paracelse¹ constatait une plus grande fréquence du cancer du sein chez les femmes n'allaitant pas, y voyant une punition de Dieu « *qui ordonna à la femme de nourrir l'enfant qu'elle enfante : auquel (sic) la nature lui a donné deux mamelles* » [52].

Aujourd'hui, l'effet de l'allaitement sur le risque de cancer du sein reste controversé. Cependant, une étude internationale effectuée à partir de 47 études, a rapporté une diminution significative du risque de cancer du sein de plus de 4% pour chaque période d'allaitement de 12 mois [53]. Le fondement biologique d'une association inverse entre l'allaitement et le risque de cancer du sein n'est pas entièrement connu. Toutefois, plusieurs mécanismes sont plausibles. La lactation produit des changements hormonaux endogènes, en particulier une réduction d'œstrogènes qui permettrait de diminuer l'exposition totale aux œstrogènes chez la femme. Or, comme évoqué précédemment (chapitre 1, section V/A/1), le cancer du sein est un cancer hormono-dépendant. Par conséquent, la lactation réprimerait l'apparition et le développement du cancer du sein [24]. Enfin, l'effet protecteur de l'allaitement pourrait être attribuable à son rôle dans le retardement du rétablissement de l'ovulation et donc à une reprise différée des cycles menstruels précédemment évoqués comme étant des facteurs de risque (chapitre 1, section V/A/1).

5. Interruptions de grossesse

Il a été supposé que l'interruption de la maturation des cellules mammaires lors d'une interruption de grossesse (induite ou spontanée) pouvait être associée à une augmentation du

¹ Paracelse, né Philippus Theophrastus Aureolus Bombastus von Hohenheim en 1493 ou en 1494 à Einsiedeln, Suisse centrale, et mort le 24 septembre 1541 à Salzbourg, Autriche, fut un alchimiste, astrologue et médecin suisse.

risque de cancer du sein. Cette association reste cependant extrêmement controversée. En effet, alors qu'une méta-analyse menée sur 23 études a rapporté une augmentation du risque de cancer du sein associée aux interruptions induites de grossesse [54], d'autres études plus récentes n'ont mis en évidence aucune association [55-57].

6. Prise de contraceptifs

Dans la littérature, le lien entre les contraceptifs oraux et le cancer du sein est très controversé.

En 1996, le Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer a réalisé une méta-analyse sur des données individuelles de 54 études épidémiologiques, incluant 53 297 cas de cancers du sein et 100 239 femmes témoins correspondant à environ 90% des données épidémiologiques disponibles sur cette association [58]. Les résultats de cette étude montrent que les femmes en cours d'utilisation de contraceptifs oraux ont un risque relatif augmenté de cancer du sein comparativement aux non-utilisatrices. Cette augmentation décroît progressivement après l'arrêt d'utilisation et disparaît complètement 10 ans après cet arrêt.

En revanche, la Women's Care Study [59] ne montre aucune augmentation de risque de cancer du sein quelle que soit la durée d'utilisation. Même pour les femmes ayant utilisé des contraceptifs oraux pendant plus de 15 ans, aucune association n'a pu être mise en évidence ($OR=1,0$ [$IC95\%=0,8-1,3$]). Il en va de même pour des études plus récentes, comme la Oxford Family Planning Association study incluant 17 000 femmes ayant entre 25 et 39 ans entre les années 1968 et 1974 [60]. L'étude Royal College of General Practitioners' Oral Contraception Study incluant 46 000 femmes suivies depuis 1968-1969, n'a également pas mis en évidence d'augmentation du risque de cancer du sein associée à l'utilisation de contraceptifs oraux [61].

7. Prise de traitements hormonaux substitutifs

Les traitements hormonaux substitutifs de la ménopause sont prescrits pour pallier la diminution du niveau d'hormones ovariennes circulantes. Les femmes sous traitement hormonal substitutif présentent un risque augmenté de cancer du sein, comparées aux femmes qui n'en ont jamais utilisé [62-64], et le risque de cancer du sein augmente avec la durée d'utilisation.

Pour les femmes ayant suivi un traitement hormonal substitutif pendant cinq ans ou plus, le risque est augmenté de 26% à 35% comparé aux femmes n'ayant jamais utilisé ce type de traitement [33,62]. Cependant, ce risque diminue dès l'arrêt du traitement. Il a également été

montré que, chez les femmes ayant eu recours au traitement hormonal substitutif à l'âge de 50 ans, durant 5, 10 et 15 ans, l'excès du nombre cumulé de cancers du sein diagnostiqués entre 50 et 70 ans, est respectivement de 2, 6 et 12 cas pour 1000 par rapport aux non-utilisatrices [33]. Par ailleurs, l'étude Million Women Study (MWS) initiée en 1996 a suivi plus d'un million de femmes âgées de 50 à 64 ans au Royaume-Uni. Les premiers résultats publiés en 2003 ont montré que les femmes sous traitement œstroprogestatif au moment de la censure (on définira le terme d'« utilisation en cours » pour évoquer ces femmes dans la suite du manuscrit) avaient un risque de cancer doublé par rapport aux non-utilisatrices [63]. Ce risque augmente avec la durée du traitement.

Un des mécanismes par lesquels le traitement hormonal substitutif influence le risque de cancer du sein est qu'il retarde les effets protecteurs de la ménopause.

B. Facteurs environnementaux et de mode de vie

Le mode de vie fut mis en cause dans le cancer par Gilles Le Vacher dès 1740, ce dernier insistant sur l'effet carcinogène d'un mode de vie dérégulé et du moral : « *Une vie molle oisive et sédentaire, une suite d'afflictions de chagrins qui cause une tristesse profonde et permanente peuvent être de véritables causes du schirrhe des mamelles* » [52]. La géographie et le climat ont également été soupçonnés d'être en lien avec le cancer. Ainsi, au milieu du XX^e siècle, les VI^e et VII^e arrondissements de Paris étaient plus cancérigènes que le XIII^e [1]. Certains arbres fruitiers seront également suspectés par le Dr Julien Besançon (1862-1952) qui déclarait que toutes les « *maisons à cancer* » qu'en tant que médecin il avait dû visiter, étaient flanquées de jardins fruitiers [65].

1. Indice de masse corporelle (IMC)

Le surpoids est un facteur associé au risque de cancer du sein de façon différente, en fonction du statut ménopausique : le surpoids diminue le risque de cancer du sein avant la ménopause (RR=0,98 [IC95%=0,97-0,99] par unité d'IMC additionnelle), mais l'augmente en post-ménopause (RR=1,02 [IC95%=1,02-1,03] par unité d'IMC additionnelle) [66-68]. En effet, avant la ménopause, les femmes en surpoids ont un plus faible nombre d'ovulations et une diminution du taux d'hormones sanguin. A la ménopause, la production d'œstrogènes est stoppée dans les ovaires mais elle se poursuit dans les tissus adipeux. Une femme ménopausée avec un IMC élevé a donc une production accrue d'œstrogènes par rapport aux femmes ayant un IMC « normal » [69].

2. Consommation de tabac

Bien que la fumée du tabac soit une importante source de substances carcinogènes, pendant longtemps la cigarette n'a pas été considérée comme un facteur de risque établi de cancer du sein en population générale. Certaines études ont même rapporté un effet protecteur du tabac vis-à-vis du cancer du sein. En effet, fumer pourrait réduire le risque par un effet anti-œstrogénique ou une altération du métabolisme hormonal [70]. Des études plus récentes ont suggéré une augmentation du risque chez les fumeuses, en particulier si l'exposition est longue ou débute avant la première grossesse, laissant penser que l'effet du tabac pourrait varier au cours de la vie et selon le début de l'exposition [71]. En 2005, une analyse poolée de 20 études ayant mesuré à la fois l'exposition au tabac actif et au tabac passif a été réalisée. Cette étude a pu mettre en évidence une augmentation du risque de cancer du sein chez les femmes ayant été exposées directement ($RR=2,08$ [$IC95\%=1,44-3,01$]) ou indirectement à la fumée de cigarette ($RR=1,90$ [$IC95\%=1,53-2,37$]) par rapport aux femmes n'ayant jamais été exposées [72].

3. Consommation d'alcool

En population générale, l'alcool est le seul facteur de risque nutritionnel établi pour le cancer du sein. Ce risque relatif augmente d'environ 7% pour chaque 10 g additionnel d'alcool consommé par jour. En effet, comparativement aux femmes déclarant ne pas consommer d'alcool, les consommatrices de 35 à 44 g¹ d'alcool par jour ont un risque relatif de 1,32 [$IC95\%=1,19-1,45$], et celles consommant plus de 45 g d'alcool par jour ont un risque relatif de 1,46 [$IC95\%=1,33-1,61$] [73]. Par ailleurs, Tjønneland *et al.* [74] montrent une association linéaire du risque de cancer du sein avec une augmentation de la consommation d'alcool. Cette étude de la cohorte EPIC a trouvé une augmentation de 3% [$IC95\%=1\%-5\%$] du risque de cancer du sein par verre d'alcool (10 g d'éthanol) par jour parmi 274 688 femmes dont 4 285 avaient développé un cancer du sein [74].

L'alcool provoque une augmentation du niveau d'hormones dans le sérum et une production accrue de facteurs de croissance IGF (*insulin-like growth factor*). Les IGF agissent comme des mitogènes, inhibent l'apoptose et interagissent avec les œstrogènes. Une production accrue d'IGF augmente le risque de cancer du sein, surtout avant la ménopause [75].

¹ A titre informatif, 35 g d'alcool correspond à 3,6 verres de vin de 125 ml

4. Expositions aux radiations ionisantes

En population générale, les expositions aux radiations ionisantes ont été montrées comme étant associées avec une augmentation du risque de cancer du sein [76]. Par ailleurs, plusieurs études ont été menées sur les survivantes à la bombe atomique d'Hiroshima ou sur une population ayant subi des irradiations dans un cadre médical (irradiation par imagerie médicale ou à visée thérapeutique). Ces études montrent une augmentation du risque estimée comprise entre 1,0 et 4,3 par Gray [77-86]. Par ailleurs, plusieurs de ces études ont montré que le risque de cancer du sein associé aux irradiations était plus important pour les femmes ayant été exposées durant l'enfance ou l'adolescence [77,79-84].

Les facteurs de risque étudiés en population générale sont résumés dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Récapitulatif des facteurs de risque gynéco-obstétrique et « de style de vie » en population générale

Facteurs de risque	Effet vis-à-vis du cancer du sein	Exemple de Références
Age précoce aux premières règles	++	[30,31],
Densité mammaire élevée	+++	[87,88]
Contraception orale	Controversé	[58-61]
Parité	- - -	[32,33]
Allaitement	Controversé	[53]
Interruptions de grossesses	Controversé	[54-57]
Age tardif à la ménopause	++	[32,33]
Traitement hormonaux substitutifs	+	[33,62-64]
Expositions aux radiations ionisantes	++	[77-79]
Indice de masse corporelle élevé avant la ménopause	-	[66-68]
Indice de masse corporelle élevé après la ménopause	+	
Consommation de tabac	Controversé	[72]
Consommation d'alcool	+	[73,74]
+ : risque relatif compris entre 1,1 et 2 ++ : risque relatif compris entre 2 et 4 +++ : risque relatif supérieur à 4 - : risque relatif compris entre 0,9 et 1 - - : risque relatif compris entre 0,7 et 0,9 - - - : risque relatif inférieur à 0,7		
Ovariectomie	- - -	[89]

C. Facteurs génétiques

Plus de 50 études ont mis en évidence une association entre le risque de cancer du sein et une histoire familiale de cancer du sein. Le document le plus ancien d'agrégation familiale de cancer du sein date de 1757 et a été rédigé par le Dr Le Dran (chirurgien français) à l'occasion du diagnostic de cancer du sein chez une jeune femme de 19 ans [90]. Plus tard, Paul Broca, décrivant une famille dont 38 femmes avaient été atteintes de cancer entre 1778 et 1856, a noté cette « *singulière disposition de l'économie que cet état inconnu qui peut se transmettre par hérédité trente ans et plus avant de s'être révélé par le moindre symptôme* » [91]. Gaspard-Laurent Bayle pose d'ailleurs la question dans son ouvrage Traité des maladies cancéreuses publié à titre posthume en 1833 : « *La disposition au cancer est-elle antérieure à la naissance, ou bien survient-elle à une certaine époque de la vie et sous l'influence de certaines conditions relatives au tempérament, au genre de vie, au climat, etc. ?* » [1]. Gustave Roussy eut beaucoup de mal à accepter cette notion d'hérédité. En 1924, dans son ouvrage L'état actuel du problème du cancer, il déclarait : « *Accepter l'hérédité du cancer c'est se plier devant un mal inévitable et renoncer de ce fait à tous les moyens qui peuvent nous en préserver, c'est en somme saper toutes les mesures de prophylaxie anticancéreuse* » [1]. Cependant il distinguait l'hérédité directe de l'hérédité de prédisposition et admettait que cette dernière « *peut être acceptée pour le moment* ». Cette notion d'hérédité a bien sûr donné lieu à des propos eugénistes, comme ceux du docteur Michel Rémy, qui dans son ouvrage La Bataille du cancer : Méthode systématique préventive et curative pour vaincre le cancer déclarait qu'il jugeait souhaitable de s'opposer au mariage de personnes prédisposées [1].

Il faut cependant attendre les années 60 pour que les premières études épidémiologiques montrent un risque augmenté de cancer du sein chez les femmes ayant au moins une sœur atteinte de cancer du sein [90,92].

Dans les années 80, début des années 90, 200 familles danoises recensées à partir des cas de CS du registre des tumeurs du Danemark enregistrés entre 1942 et 1943 [93] sont alors les seules données disponibles et sont analysées par de nombreux auteurs. De plus, des méthodes d'analyse de ségrégation plus complexes ont alors été développées et ont permis à Williams et Anderson de conclure à l'existence d'un mode de transmission du cancer du sein compatible avec un modèle monogénique autosomique dominant [94].

J Schildkraut *et al* [95] montrent en 1989, à partir d'une grande étude cas-témoin, l'étude CASH (Cancer And Steroid Study), qu'avoir une apparentée de premier degré atteinte d'un cancer du sein ou de l'ovaire augmentait le risque de ces cancers :

- Une apparentée au premier degré d'une femme atteinte d'un cancer du sein a 2,1 fois plus de risque de développer un cancer du sein [IC95%=1,7-2,5]
- Une apparentée au premier degré d'une femme atteinte d'un cancer de l'ovaire a 1,6 fois plus de risque de développer un cancer du sein [IC95%=1,1-2,1]

Claus *et al.* [96] confirment en 1990 ces résultats dans une autre étude cas-témoin, menée aussi à partir de l'étude CASH (dont les effectifs avaient depuis 1989 largement augmenté) [97]. Cette étude montre que les risques relatifs augmentaient avec la précocité des diagnostics et le nombre d'apparentées atteintes. Par exemple, une femme dont la fille a été atteinte à l'âge de 50 ans a un risque augmenté de 1,7 [IC95%=1,4-2,0], alors qu'il est de 2,7 [IC95%=2,2-3,2] et 4,3 [IC95%=3,3-5,6] pour la mère de femmes atteintes respectivement à 40 ou 30 ans. En 2001, la méta-analyse d'Oxford [98] regroupe 52 études épidémiologiques sur le cancer du sein dans des familles à haut risque (58 209 patientes atteintes de cancer du sein et 101 986 témoins). Cette méta-analyse montre qu'une femme apparentée au premier degré à une, deux ou trois femmes atteintes d'un cancer du sein, a respectivement un risque relatif de 1,80 [IC95%=1,69-1,91], 2,93 [IC95%=2,36-3,64] et 3,90 [IC95%=2,03-7,49].

Cependant, il semble exister une hétérogénéité dans le mode de cette transmission. En effet, Andrieu *et al.* [99] à partir de ces familles danoises, et Goldstein et Amos [100] à partir des familles caucasiennes de l'étude CASH [100], confirment bien un mode de transmission compatible avec un modèle monogénique autosomique dominant, mais seulement sur un sous-groupe de familles qui ne présentent que des cas de cancer du sein pour Andrieu *et al.* [99] et dont le proposant est non ménopausé pour Goldstein et Amos [100].

1. La découverte des gènes *BRCA1* et *BRCA2*

En 1990, Hall *et al.* [101] localisent sur le chromosome 17 un premier gène de susceptibilité au cancer du sein, appelé *BRCA1* (pour BReast CAncer 1). En 1994, Wooster *et al.* [102] entreprennent une analyse de liaison génétique sur génome entier sur 15 familles non liées au locus *BRCA1* et présentant de nombreux antécédents de cancer du sein et aucun cancer de l'ovaire. L'identification de ces deux gènes a été le point de départ d'une recherche intensive de mutations de ces gènes dans différentes populations. Les porteuses de mutations sur les

gènes *BRCA1* ou *BRCA2* ont un risque de cancer du sein 10 à 30 fois plus élevé que les femmes de la population générale [103].

Parallèlement, plusieurs gènes impliqués dans des syndromes particuliers ont également été trouvés comme étant associés à une augmentation élevée du risque de cancer du sein ($RR \geq 5,0$) : les gènes *TP53*, *CDH1*, *STK11/LKB1* et *PTEN* (évoqués ci-dessous) [104]. Ces gènes mineurs de prédisposition sont à l'origine de moins de 1% du risque familial de cancer du sein tandis que les gènes *BRCA1* et *BRCA2* représentent à eux seuls environ 15% des formes familiales de cancer du sein. Cependant, il faut noter que l'héritabilité manquante concerne plus de 80% des formes familiales de cancer du sein (cf. Figure 7).

Il existe un second groupe de gènes augmentant plus modérément le risque de cancer du sein : les gènes *CHECK2*, *ATM*, *BRIP1*, et *PALB2*. Bien que ces gènes aient été pendant longtemps associés à une faible augmentation du risque de cancer du sein, ils sont aujourd'hui considéré comme augmentant modérément le risque de cancer du sein (RR compris entre 1,5 et 5,0) [104] (cf Figure 8).

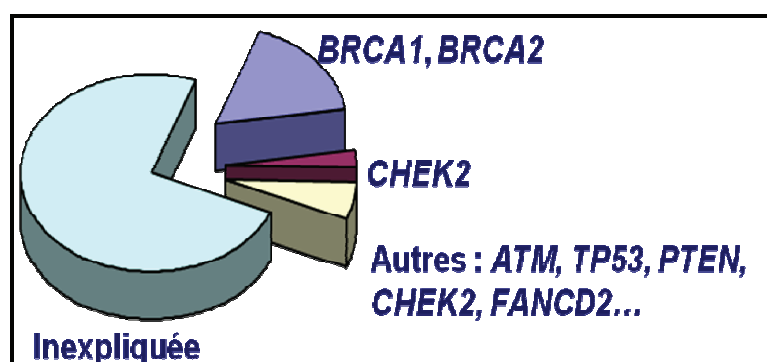


Figure 7 : Gènes impliqués dans l'augmentation du risque de cancer du sein dans des familles à haut risque de cancer du sein

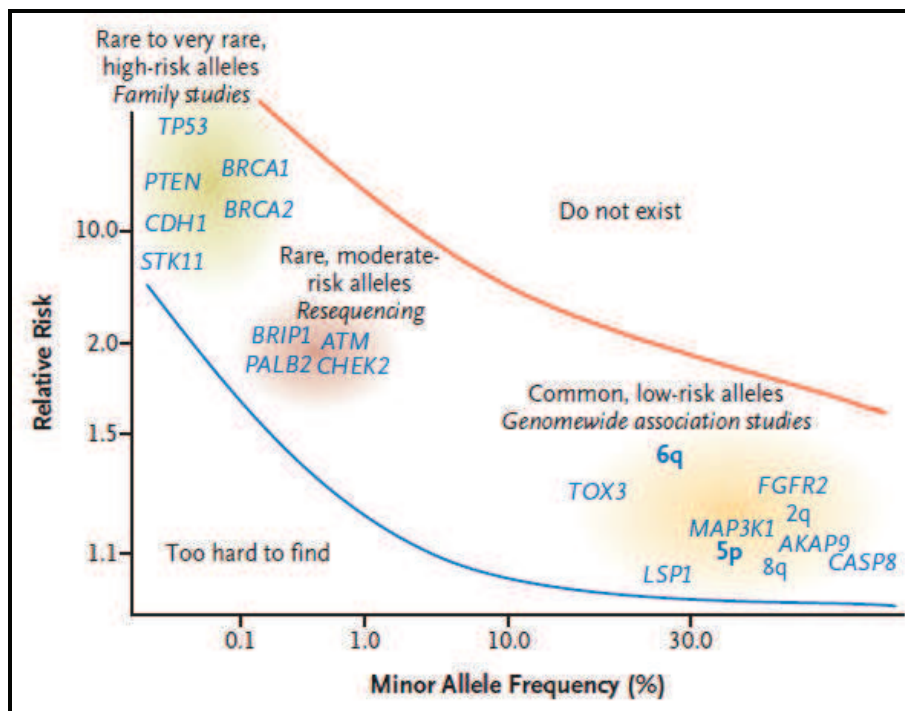


Figure 8 : Loci et gènes de prédisposition au cancer du sein (Foulkes *et al.* [104])

2. Les gènes syndromiques

a) Le gène *PTEN* et la maladie de Cowden

La maladie de Cowden est une maladie génétique rare, caractérisée par une macrocéphalie, une ataxie cérébelleuse progressive, des tumeurs bénignes et une augmentation du risque de cancer du sein, de la thyroïde et de l'endomètre [105]. Le gène responsable de la maladie a été identifié en 1996 grâce à une analyse de liaison génétique [106] mais il n'explique que 80% des cas atteints de la maladie [107]. L'estimation du risque de cancer du sein dans ce syndrome indiquait jusqu'à présent un risque cumulé sur la vie de 50% [105] mais deux études récentes menées à partir de séries importantes de patients montrent que ce risque pourrait atteindre 85%, c'est-à-dire du même ordre que celui associé à une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2* [108,109].

b) Les formes familiales de cancers gastriques liées aux mutations du gène *CDH1*

Certaines formes familiales de cancers gastriques de type diffus sont dues à des mutations constitutionnelles du gène *CDH1* codant la E-Cadherine, les mutations de ce gène donnant des risques absolus de cancer de l'estomac de l'ordre de 80% [110]. Dans ce contexte génétique, il a également été identifié un sur-risque de cancer du sein et particulièrement de carcinome lobulaire infiltrant. Le risque cumulé de cancer du sein est de l'ordre de 60 %.

c) Le syndrome de Peutz-Jeghers

Le syndrome de Peutz-Jeghers est une polypose hamartomateuse digestive rare à transmission autosomique dominante, liée à une mutation constitutionnelle du gène *STK11/LKB1*. Elle est caractérisée par une localisation grêle préférentielle qui rend compte des circonstances du diagnostic qui est généralement porté au cours de la deuxième décennie. L'affection est associée à une augmentation importante du risque de cancers, cancer du sein en particulier [111]. Le risque cumulé de cancer du sein sur la vie est compris entre 32 et 54% [112].

d) Le gène *TP53* et le syndrome de Li-Fraumeni

Le syndrome de Li et Fraumeni a été décrit pour la première fois en 1969 par deux épidémiologistes : Frédérick Li et Joseph Fraumeni [113]. Il s'agit d'une forme héréditaire de cancers touchant l'enfant et l'adulte jeune, dont les formes sont liées, pour la plupart, aux mutations du gène *TP53* identifié en 1990 [114]. Il s'agit d'un syndrome rare puisque seulement plusieurs centaines de familles ont aujourd'hui été décrites dans le monde. Les mutations germinales sont impliquées dans l'augmentation du risque de cancer du sein dont les diagnostics surviennent à un âge précoce, mais également dans l'augmentation du risque de sarcome des tissus mous, d'ostéosarcome, de tumeur cérébrale, de corticosurrénalome, de tumeur des plexus choroïdes, de leucémie et de cancer du poumon broncho-alvéolaire. Le risque cumulé de cancer du sein au cours de la vie est de l'ordre de 49% à l'âge de 60 ans [115].

e) Le gène *CHEK2* et le syndrome de Li-Fraumeni

Le gène *CHEK2* est un suppresseur de tumeur qui comme *TP53* est impliqué dans le syndrome de Li-Fraumeni. Le gène *CHEK2* a été montré comme étant impliqué dans l'augmentation du risque de cancer du sein par plusieurs études [116-119]. En 2002, une première mutation récurrente, la 1100delC, a été associée à cette augmentation de risque [116]. D'autres ont par la suite été identifiées : la IVS2+1G>A, la del5395 et la I157T, mutations principalement retrouvées en Europe de l'Est. Le risque de cancer du sein des femmes hétérozygotes pour une mutation du gène *CHEK2* est multiplié d'un facteur 1,5 à 3 [117,118]. Une étude récente a estimé que le risque absolu de cancer du sein pouvait atteindre 44% pour les porteuses de mutation dans le gène *CHEK2* ayant une apparentée du premier et du second degré atteintes [119].

f) Le gène *ATM* et l'ataxie-télangiectasie

L'ataxie-télangiectasie (A-T) est une maladie génétique rare à transmission autosomique récessive qui confère une dégénérescence neurologique progressive, une immunodéficience et

une hypersensibilité aux rayonnements ionisants, ainsi qu'un risque élevé de cancer tel que la leucémie et le lymphome chez les enfants et les jeunes adultes qui en sont atteints. L'état hétérozygote pour une mutation du gène *ATM* prédispose au cancer du sein, avec un risque relatif tout d'abord estimé à 4 [120-122], puis, lors d'une méta-analyse, à environ 2,5 [121]. Une étude menée au sein de mon équipe d'accueil a recherché d'éventuelles variations du risque de cancer du sein en fonction du type et de la localisation des mutations sur 34 familles [123]. Cette étude suggère une variation du risque de cancer du sein en fonction de la localisation des mutations. En effet, ils observent une augmentation du risque de cancer du sein particulièrement élevé chez les porteuses d'une mutation dans la région N-terminale du gène *ATM* comparativement aux autres régions. Suite à cette étude, la cohorte CoF-AT (Cohorte Française sur l'Ataxie-Télangiectasie), constituée de femmes hétérozygotes et non hétérozygotes pour l'AT, apparentées à un enfant atteint d'AT, a été créée au sein de mon équipe d'accueil. Cette étude a pour but d'estimer le risque de cancer du sein des femmes porteuses d'une mutation dans le gène *ATM* en fonction de divers facteurs génétiques et non génétiques.

g) Le gène *BRIP1* et l'anémie de Fanconi

Le gène *BRIP1*, a récemment été associé à l'anémie de Fanconi dans certaines mutations bi-alléliques [124,125]. L'anémie de Fanconi est une maladie génétique récessive rare se manifestant par des troubles développementaux, sanguins, et une prédisposition à certains cancers. Les cellules de patients montrent une sensibilité élevée aux agents causant des ponts inter-brins dans l'ADN, dont la réparation implique l'activation de la recombinaison homologue. Des mutations trouquantes de *BRIP1* ont été identifiées chez des cas de cancer du sein provenant de familles à risque élevé dépourvues de mutations dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2*, permettant ainsi d'associer clairement des mutations de *BRIP1* avec un risque accru de cancer du sein, alors que le risque relatif conféré par des mutations de *BRIP1* a été estimé à 2,0 (95% CI = 1,2-3,2, p=0,012) [126].

h) Le gène *PALB2* et l'anémie de Fanconi

A l'instar du gène *BRIP1*, le gène *PALB2* est associé à l'anémie de Fanconi Il a été estimé que le risque relatif de cancer du sein associé aux mutations du gène *PALB2* était de 2,3 [IC 95% = 1,4-3,9][125]. Il a été retrouvé dans un contexte de mutation hétérozygote du gène *PALB2* quatre fois plus de cas cancer du sein masculin [IC 95% = 2,25-7,58] et six fois plus de cas de cancer du pancréas [IC 95% = 2,41-14,56] [141].

i) Le syndrome de Lynch

Il s'agit d'un syndrome associé au cancer colorectal lié à la mutation des gènes *MMR* (Mismatch Repair). Des mutations des gènes *MMR* sont également responsables d'une augmentation du risque ovarien et peuvent être le reflet de formes familiales ou encore de diagnostics précoces [127,128]. La proportion des cas de cancer de l'ovaire survenant dans un contexte de mutation des gènes *MMR* n'a pas été clairement appréciée. Dans le syndrome de Lynch, la question d'une augmentation du risque relatif de cancer du sein fait toujours débat. Ce sur-risque potentiel n'est en tout cas pas du tout pris en compte au moment de l'établissement des recommandations des femmes porteuses d'une mutation d'un gène *MMR*. Néanmoins, une étude prospective récente a caractérisé un sur-risque relatif de 3,95 [IC95%=1,59-8,13] [129].

j) Le gène *AR* (Récepteur aux androgènes) et le syndrome de Reifenstein

Le syndrome de Reifenstein est une maladie rare liée au chromosome X qui confère une résistance aux androgènes. Dans deux familles présentant ce syndrome, 6 hommes, pour lesquels une mutation germinale sur le gène *AR* codant pour le récepteur aux androgènes a été retrouvée, ont développé un cancer du sein. Cette mutation est localisée dans le motif en doigt en zinc du domaine de liaison à l'ADN [130,131].

3. Les SNPs

Plus récemment, des SNPs (pour Single Nucleotide Polymorphism) ont été trouvés comme étant associés au cancer du sein mais avec des risques relatifs très modérés. En effet, les études d'association génome entier (GWAS) reposant sur l'analyse de variants fréquents dans la population générale (c'est-à-dire des SNPs dont la fréquence de l'allèle rare est supérieure à 5%) ont permis d'identifier quelques SNPs associés à des risques relatifs de cancer du sein ou de l'ovaire très faibles (odds ratios inférieurs à 1,5). Aujourd'hui, près de 25 loci ont été mis en évidence dans la susceptibilité au cancer du sein [132]. On peut par exemple citer un SNP localisé dans l'intron 2 du gène *FGFR2*, pour lequel il a été identifié un risque augmenté de cancer du sein de 1,26 [IC95%=1,23-1,30] chez les porteurs de l'allèle rare [133]. Le SNP rs3803662 du gène *TNRC9* a également été montré comme fortement associé au cancer du sein avec un OR=1.15 et un $p = 5.1 \times 10^{-2}$ [134]. D'autres SNPs ont été montrés comme étant associés à une augmentation ou à une diminution modérée du risque de cancer du sein, comme *MAP3K1*, ou encore des SNP proches des gènes *LSP1* (OR=1,07 [IC95%=1,04-1,11]) et *H19* (OR=0,96 [IC95%=0,93-0,99]) [133].

Même si un certain nombre de patientes atteintes de cancer du sein présentent une histoire familiale fortuite, du fait de la fréquence de la maladie en population générale, d'autres ont une histoire familiale sévère qui semble laisser peu de place au hasard et suggère l'existence de facteurs génétiques différents. De nombreux efforts sont faits aujourd'hui pour les identifier. Une étude française de cohorte, GENESIS (pour GENE SISTER) coordonnée au sein de mon équipe d'accueil, ayant pour but d'identifier et caractériser de nouveaux gènes de prédisposition est en cours. De nombreux génotypages et des analyses de liaison devraient permettre d'identifier des loci partagés par des paires de sœurs atteintes de cancer du sein

4. Les gènes *BRCA1* et *BRCA2*

a) Les mutations des gènes *BRCA1* et *BRCA2*

A ce jour, près de 1500 mutations des gènes *BRCA1* (1440 mutations différentes) et *BRCA2* (1796 mutations différentes) ont été décrites (<http://www.umd.be/>). Les mutations des gènes *BRCA1* et *BRCA2* conduisent le plus souvent à la synthèse d'une protéine tronquée. On trouve de petites délétions ou insertions, des mutations faux-sens ou non-sens survenant dans des séquences codantes ou introniques, pouvant interférer avec l'épissage et rompant le cadre de lecture, mais on estime que des réarrangements de grande taille représentent 15% des mutations du gène *BRCA1* [135] et 7% des mutations du gène *BRCA2* [136]. Il existe très peu de hot-spots de mutation, la plupart des mutations différant d'une famille à l'autre, et étant réparties sur l'ensemble de la séquence codante des deux gènes particulièrement longs.

Quelques mutations « fondatrices » ont été caractérisées, notamment dans la population d'origine juive d'Europe de l'Est (Ashkénazes : 185delAG et 5385insC de *BRCA1* ; 6407delT de *BRCA2*), en Islande (999del5 de *BRCA2*), chez des Canadiens francophones (il existe 7 mutations fréquentes des deux gènes) dont près de 10 000 migrants, principalement d'origine française, se sont installés dans la région de Québec entre 1608 et 1760, ancêtres aujourd'hui de la majorité des 6 millions de Canadiens francophones, ou encore en Alsace (3600del11 de *BRCA1*) [137]

b) Rôle du gène *BRCA1*

La protéine produite par le gène *BRCA1* (BRCA1) (cf. annexe II : du gène à la protéine) est composée de 1863 acides aminés (cf. Figure 9) et comporte de nombreux domaines fonctionnels et de liaison protéique aujourd'hui connus : un domaine Ring permettant la liaison avec un atome de Zinc, deux domaines BRTC (pour « *BRCA1* C-terminal ») permettant des liaisons protéiques, deux séquences NLS (pour « Nuclear Localization Sequences ») permettant l'adressage de la protéine au noyau, un domaine coiled-coil connu

pour interagir avec des domaines de même type, des domaines de liaison à l'ADN permettant l'activation de la transcription, et plusieurs autres domaines d'interaction protéique comme le domaine de liaison à la protéine BRCA2, le domaine de liaison à BRAD1 et le domaine de liaison au complexe SWI/SNF [138]. Une phosphorylation différentielle de la protéine BRCA1 permet à cette dernière d'assurer diverses fonctions cellulaires.

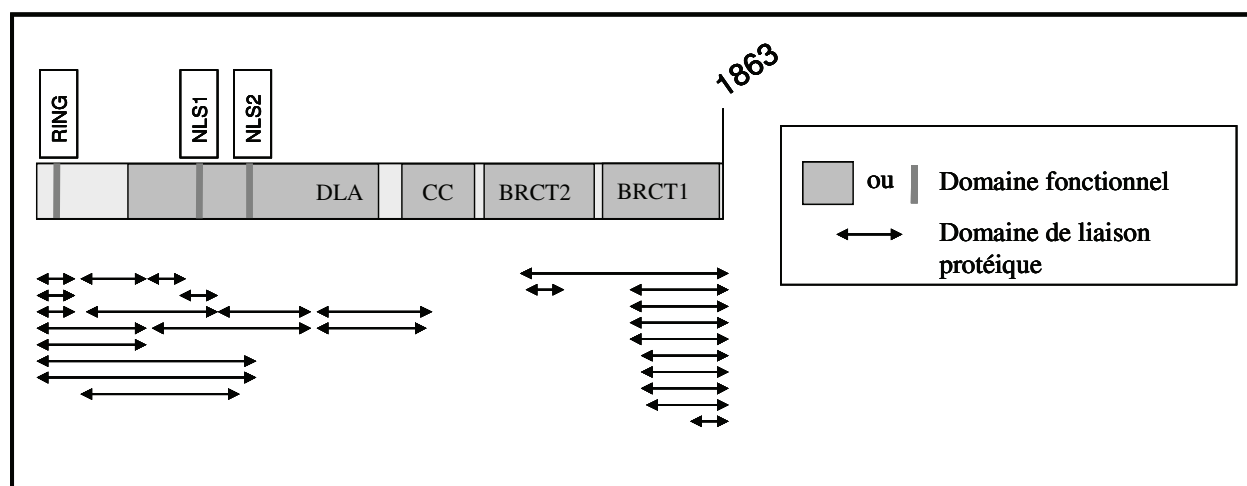


Figure 9 : Représentation schématique du gène *BRCA1*, de ses domaines fonctionnels et de ses domaines de liaison protéique

Bien que son mode d'action soit encore imprécis, la protéine BRCA1 est reconnue comme étant impliquée dans un certain nombre de fonctions et ce notamment grâce à des interactions physiques avec d'autres protéines :

La localisation des lésions de l'ADN et leur réparation : le gène *BRCA1* a un grand nombre de fonctions dans la réparation de l'ADN grâce à ses domaines de liaison à l'ADN, mais également grâce à de nombreuses liaisons avec d'autres protéines (surtout via le domaine BRCT). En effet, la protéine BRCA1 participe à la réparation des lésions de type cassure double brin et de type liaison inter brins ou « crosslink » de l'ADN par recombinaison homologue en s'associant avec une autre protéine (RAD 51), ou par réparation couplée à la transcription (réparation qui se produit en même temps que la transcription) qui se fait par l'intermédiaire d'un hétérodimère BRCA1-BARD1. [139]

Le contrôle du cycle cellulaire : le gène *BRCA1* a une fonction centrale, celle de coordination du complexe de surveillance du génome nommé BASC (pour « *BRCA1*-associated genome surveillance complex »). Ce complexe est formé par des protéines suppresseurs de tumeur impliquées dans la réparation de l'ADN (MSH2, MSH6, MLH1, ATM et le complexe RAD50-MRE11-NBM) [140]. Cette fonction a lieu par l'intermédiaire du motif BRCT qui est

fréquent et semble commun aux protéines impliquées dans la réparation de l'ADN, et celles impliquées dans le contrôle du cycle cellulaire [141].

L'ubiquitylation : l'ubiquitylation est un processus qui permet de cibler les protéines destinées à la dégradation par le protéasome. Cette fonction se fait grâce à son domaine Ring et par l'intermédiaire de la formation d'un complexe avec la protéine BRAD1 [141].

Le remodelage de la chromatine : le remodelage de la chromatine intervient lorsque se produit une cassure double brin. Plusieurs complexes multimériques sont impliqués dans ce processus, dont la protéine BRCA1 semble également faire partie. La protéine BRCA1 apparaît comme interagissant directement avec le complexe SW1-SNF grâce à l'un de ses nombreux domaines de liaison. L'activation d'autres gènes impliqués dans la réponse aux dommages infligés à l'ADN dépend directement de cette interaction [141].

Le contrôle de la transcription : de par son activité de remodelage de la chromatine, la protéine BRCA1 contrôle naturellement la transcription de certains gènes. Il semblerait qu'elle joue également ce rôle par l'intermédiaire de son domaine BRTC, activant ou inhibant ainsi la transcription de certains facteurs de transcription (comme les récepteurs aux œstrogènes) [141].

c) Rôle du gène *BRCA2*

La protéine produite par le gène *BRCA2* (BRCA2) est deux fois plus grande que la protéine BRCA1 et est composée de 3720 acides aminés. Comme pour BRCA1, plusieurs domaines fonctionnels et d'interactions avec d'autres protéines ont été mis en évidence, mais ces fonctions sont moins connues que celles de BRCA1 (*cf.* Figure 10). La protéine BRCA2 comporte plusieurs domaines : huit domaines BRC (pour « BRCA2 domain »), domaine d'activation de la transcription, trois domaines NLS, un domaine DBD (pour « BRCA2 DNA binding domain ») permettant une liaison avec l'ADN simple brin et plusieurs autres domaines de liaison protéique comme le domaine d'interaction avec la protéine RAD 51.

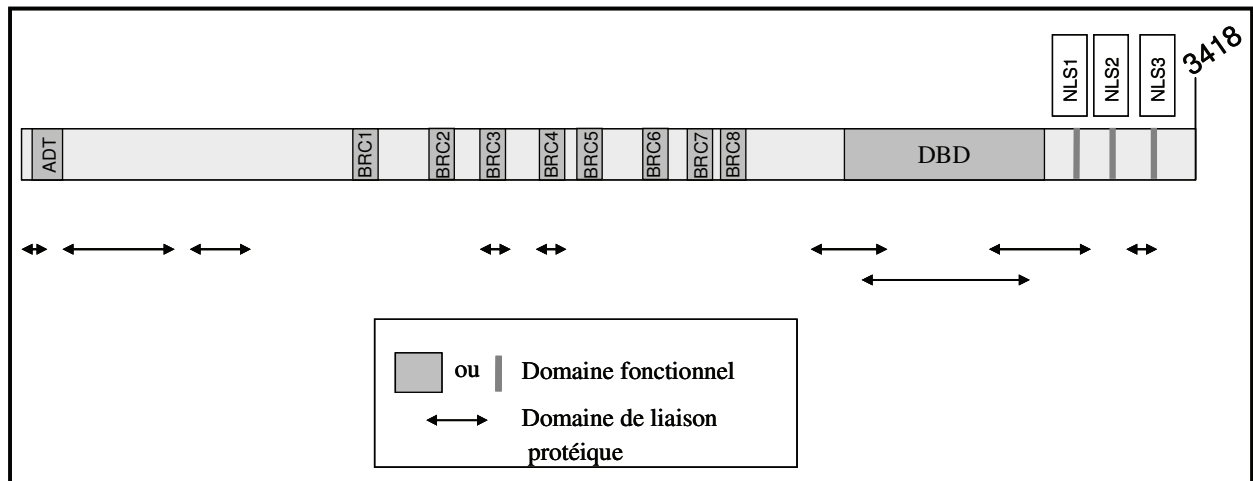


Figure 10 : Représentation schématique du gène BRCA2, de ses domaines fonctionnels et de ses domaines de liaison protéique

Les domaines connus aujourd'hui sont associés à des fonctions cellulaires comme celles de :

La localisation des lésions de l'ADN et leur réparation : Comme BRCA1, la protéine BRCA2 joue un rôle dans la réparation de l'ADN par recombinaison homologue en s'associant à la protéine RAD51 par l'intermédiaire de ses domaines BRC. La protéine BRCA2 semble également jouer un rôle direct dans la recombinaison homologue, et ce, grâce à son domaine DBD permettant d'orchestrer des interactions entre protéines nucléaires.

La régulation de la transcription : Il semblerait que le gène *BRCA2* joue également un rôle dans la régulation de la transcription, le remodelage de la chromatine, et le contrôle du cycle cellulaire, mais ces fonctions sont moins bien connues [141].

d) Estimation de la pénétrance¹

Les premières estimations de risque de cancer lié à une mutation constitutionnelle délétère des gènes *BRCA1* et *BRCA2* qui ont pu être utilisées datent de 1995 [142] et 1998 [143]. Ces études ont été réalisées à partir des patientes sélectionnées sur leur histoire familiale (plusieurs cas de cancers du sein et de l'ovaire dans la famille), familles qui ont contribué à l'identification des gènes *BRCA1* et *BRCA2*. Ces études familiales ont conduit à estimer des risques absolus (ou pénétrance) de cancer du sein à l'âge de 70 ans de 80% pour les deux gènes, et un risque de cancer de l'ovaire à l'âge de 70 ans de 60% pour *BRCA1* et 30% pour *BRCA2*. Il est aujourd'hui acquis que ces pénétrances ont été surestimées du fait d'un biais de sélection (famille hyper-sélectionnées).

¹ La pénétrance est le risque cumulé, au cours de la vie ou à un âge donné, de développer un cancer du sein lorsque l'on est porteur d'une mutation sur les gènes *BRCA1* et/ou *BRCA2*

Les risques absolus ont par la suite été ré-estimés à partir d'études « dites » de population [96], c'est-à dire de cas consécutifs de cancers du sein et de l'ovaire, sans *a priori* sur l'histoire familiale. Ces estimations se sont avérées un peu plus faibles montrant ainsi une grande variabilité des estimations du risque de cancer.

Dix méta-analyses, comme celle d'Antoniou *et al.* en 2003 [103] ont donc estimé des risques moyens dans un contexte *BRCA1* ou *BRCA2*. D'après cette étude, les femmes porteuses d'une mutation de ces gènes ont 9 à 36 fois plus de risque de développer un cancer du sein que les femmes de la population générale. Le risque de cancer du sein à 70 ans est de 65% [IC95%=44%-78%] pour *BRCA1*, 45% [IC95%=31%-56%] pour *BRCA2*.

Une seconde méta-analyse, plus récente, publiée par S. Chen et G. Parmigiani [144] est aujourd'hui devenue la référence utilisée en consultation de génétique en France (communication personnelle d'Antoine de Pauw) avec une estimation moyenne de la pénétrance à 70 ans, de 57% [IC95%=47%-66%] pour *BRCA1* et de 49% [IC95%=40%-57%] pour *BRCA2* [144]. Cependant, il existe une grande variation dans les estimations de ce risque. En effet, l'existence d'une hétérogénéité dans les risques associés à une mutation de ces gènes a été évoquée par plusieurs auteurs et cette variation pourrait être due à l'existence de gènes modificateurs [139,145], à des facteurs environnementaux ou de style de vie (exemple : [146,147]), au type de la mutation et/ou sa localisation sur le gène [148,149].

e) Hétérogénéité somatique des tumeurs

Les tumeurs développées par les porteurs d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2* ont été intensivement étudiées (exemple : [150-153]). Même si certaines caractéristiques tumorales semblent plus souvent associées à une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2*, ces tumeurs restent hétérogènes.

Les tumeurs mammaires qui surviennent dans un contexte de mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2* diffèrent des tumeurs sporadiques de par leurs caractéristiques histologiques, surtout dans un contexte de mutation du gène *BRCA1*.

En effet, dans un contexte *BRCA1*, les carcinomes les plus souvent retrouvés sont de type canalaire (plus de 40% des tumeurs « *BRCA1* »), bien que des carcinomes de type médullaire sont aussi retrouvés (plus de 10% des tumeurs « *BRCA1* » alors qu'ils ne représentent que quelques pourcents des cancers du sein dans la population générale) [154]. Il a été montré que 90% des tumeurs « *BRCA1* » n'ont pas de récepteurs aux œstrogènes, pour seulement 30% des tumeurs de la population générale [152]. Alors que le phénotype triple négatif est retrouvé dans 15 à 20 % des cancers du sein sporadiques, on le retrouve dans plus de 50% des cancers du sein survenant dans un contexte de mutation du gène *BRCA1* [155]. Les tumeurs

« *BRCA1* » ont principalement un phénotype « basal-like », avec en particulier une absence d'expression des récepteurs aux œstrogènes et à la progestérone, une absence de surexpression de la protéine HER2 et une expression des cytokératines 5 et/ou 6 [153,156]. Une surexpression du récepteur à l'EGF (epidermal growth factor) est aussi un marqueur de ces tumeurs [150,157].

Les tumeurs « *BRCA2* » ressemblent à des tumeurs dites « sporadiques » [152,155,158] même si elles possèdent quelques différences morphologiques (formation de tubules, index mitotique plus élevé) [151].

La prévalence des mutations des gènes *BRCA1* et *BRCA2* dans les cancers du sein triples négatifs est comprise entre 10% et 40% selon le mode de sélection des patientes [159]. Dans une série de cas de cancer du sein triples négatifs non sélectionnés, Gonzalez-Angulo *et al.* [160] trouvent 16% de porteurs d'une mutation du gène *BRCA1* et 4% de porteurs d'une mutation du gène *BRCA2*.

Le fait d'observer des caractéristiques tumorales spécifiques selon que le gène *BRCA1* ou *BRCA2* soit muté laisse supposer que les différents types de tumeur pourraient avoir des facteurs étiologiques différents, génétiques ou autres. De nombreuses études ont recherché si les facteurs de type gynéco-obstétrique, entre autres, étaient associés au risque de développer un cancer du sein de façon différente selon le type de la tumeur (exemple : [161-168]. Ainsi, Ma *et al.* [161] montrent en 2010 que la parité semble être un facteur protecteur uniquement des tumeurs non triples. Cet effet différentiel de la parité suivant le type de tumeur est retrouvé dans plusieurs études, comme celle de Redondo *et al.* [169] publiée en 2012. Redondo *et al.* trouvent également un effet différentiel de l'allaitement qui serait plus protecteur des tumeurs triples négatives que des tumeurs de type luminal A. Xiaohong *et al.* [170] trouvent qu'un âge précoce aux premières règles, qu'un âge tardif à la première grossesse et qu'un IMC élevé chez la femme jeune, sont des facteurs de risque plus fortement associés aux tumeurs non triple négatives qu'aux tumeurs triple négatives. Pin-Ping Bao *et al.* [171] décrivent quant à eux que l'utilisation de traitement hormonaux substitutifs et la consommation d'alcool ne sont des facteurs de risque que pour les tumeurs ER+/PR-. L'ensemble de ces études montrent combien les sources d'hétérogénéité peuvent être nombreuses.

f) Facteurs modificateurs

Fin des années 80 alors que la recherche génomique sur les tumeurs commence à peine, plusieurs consortia internationaux ont été créés pour étudier les facteurs modificateurs du risque de cancer chez les femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2*. Tel

est le cas du consortium IBCCS (The International *BRCA1/2* Carrier Cohort Study) initié en 1997 par David Goldgar à l'Agence Internationale de Recherche sur le Cancer, dont la composante française d'IBCCS est la cohorte GENEPSO (Gène Etude Prospective Sein Ovaire) coordonnée par Catherine Noguès (Institut Curie, St Cloud). L'objectif de l'étude IBCCS est d'étudier de façon prospective les facteurs modificateurs non génétiques du risque de cancer du sein et de l'ovaire chez des femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2*. Une série d'analyses sur les données rétrospectives ont donné lieu à de nombreuses publications qui, aujourd'hui, font référence dans la recherche de facteurs modificateurs [147,172-176].

Parmi ces études, on peut également noter le consortium CIMBA (Consortium of Investigators of Modifiers of *BRCA1/2*) créé en 2005 dans le but d'étudier les potentiels facteurs génétiques modifiant le risque de cancer des femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2*. Ce consortium a également donné lieu à de nombreuses publications qui font référence aujourd'hui [139,145,177,177-193]

Le type et la localisation des mutations

Compte tenu du fait que les mutations peuvent donner des effets différents au niveau de la protéine, l'expressivité du phénotype peut être variable. Ainsi, une quinzaine d'études ont étudié la variation du risque de cancer du sein en fonction du type et de la localisation des mutations dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2*.

- *BRCA1*

En 1995, Easton *et al.* [142] décrivaient deux types d'allèles du gène *BRCA1* conférant des risques de cancer du sein et de l'ovaire différents. Cependant, Gayther *et al.* [194] ont été les premiers à décrire clairement une hétérogénéité du rapport de risque cancer de l'ovaire/cancer du sein en fonction de la localisation des mutations sur le gène *BRCA1* (*cf.* Figure 11). En effet, Gayther *et al.* [194] mettent en évidence une diminution significative de la proportion de cancer de l'ovaire pour les mutations localisées en 3' du gène *BRCA1* par rapport aux mutations localisées en 5'. Trois autres études portant sur ce même rapport de risque de cancer du sein trouvent aussi un ratio cancer de l'ovaire/cancer du sein plus important en 5' qu'en 3' [195-197]. En 2001, Risch *et al.* [198] estiment non pas le rapport de risque cancer de l'ovaire/cancer du sein, mais directement le risque de cancer du sein et décrivent une augmentation de ce risque relatif associée aux mutations situées après le 1238^{ème} nucléotide. Dans une seconde étude publiée en 2006, Risch *et al.* [199] confirment cette augmentation progressive du risque de cancer associée aux mutations situées de l'extrémité 5' à l'extrémité

3' du gène *BRCA1*. Cette augmentation ne fait cependant pas l'objet d'un consensus. En effet, en 2002, Thompson *et al.* [200] mettent en évidence une région centrale du gène *BRCA1* où le rapport de risque cancer de l'ovaire/cancer du sein est augmenté par rapport aux extrémités du gène. Après avoir défini cette région centrale, Thompson *et al.* ont étudié la variation du risque de cancer du sein associée à la localisation des mutations à l'intérieur ou à l'extérieur de cette région. Ils ont ainsi mis en évidence un risque de cancer du sein significativement plus faible pour les porteurs d'une mutation située dans la région centrale que pour ceux dont la mutation est située aux extrémités du gène *BRCA1*. En 2003, Scott *et al.* [201] trouvent une région similaire à celle de Thompson *et al.* [200]. Plus récemment, Al-Mulla *et al.* [202] ont montré que les porteurs d'une mutation localisée dans l'exon 2, avaient un risque de cancer du sein moindre (HR=0,29 [IC95%=0,15-0,53]) que ceux dont la mutation est située dans les exons 11 (HR=0,64 [IC95%=0,37-1,11]) et 13 (HR=0,98 [IC95%=0,40-2,42]). Cette même étude montre que l'âge au diagnostic diffère en fonction de la localisation des mutations et que les porteurs d'une mutation localisée dans l'exon 2 développaient un cancer du sein beaucoup plus tardivement que les autres (47 ans *versus* 41 ans). Il faut tout de même citer les quelques études qui ne trouvent quant à elles aucune variation du risque de cancer associée à la localisation des mutations sur le gène *BRCA1* [103,203-206]. Les différences observées entre ces études pourraient être expliquées en partie par la diversité des approches utilisées, les populations sélectionnées, les effectifs et le nombre de mutations différentes étudiées.

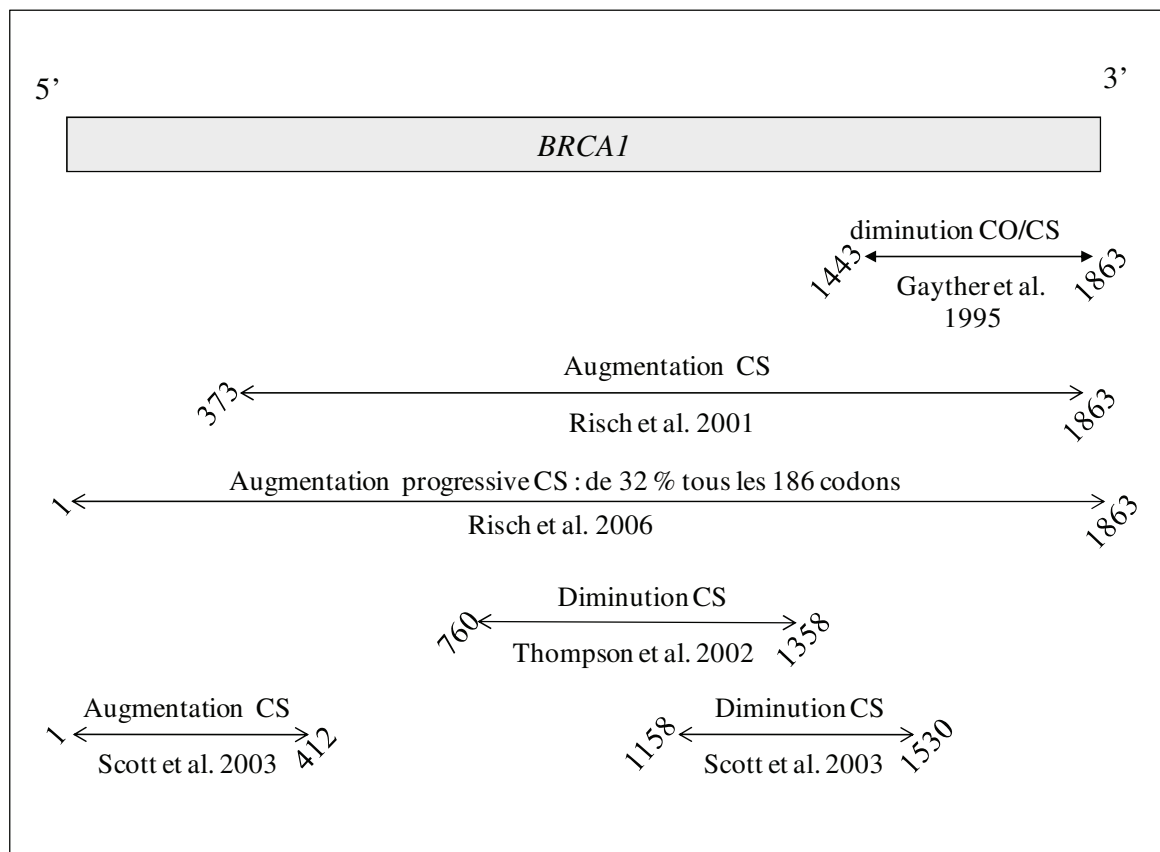


Figure 11 : Variation du risque de cancer du sein en fonction de la localisation des mutations dans le gène *BRCA1* dans la littérature

- *BRCA2*

Gayther *et al.* [207] furent les premiers à décrire une hétérogénéité de risque en fonction de la localisation de la mutation dans le gène *BRCA2* (*cf.* Figure 12). Ils décrivent alors une région centrale du gène dans laquelle le rapport de risque cancer de l’ovaire/cancer du sein est significativement plus élevé que dans le reste du gène et la nomment OCCR pour « Ovarian Cancer Cluster Region », qui correspond en fait à l’exon 11. Cette région centrale a fait l’objet d’une dizaine d’études dont celle menée par Thompson *et al.* en 2001 [148]. Thompson *et al.* ont utilisé les bornes de la région OCCR définies par Gayther *et al.* [207] pour estimer le risque de cancer du sein en fonction de la localisation des mutations. Ils décrivent ainsi une diminution du risque de cancer du sein pour les porteurs d’une mutation située dans la région OCCR. D’autres études ont également estimé le risque de cancer associé à la région OCCR toujours en utilisant les bornes suggérées par Gayther *et al.* [207] tandis que 3 études ne trouvent aucune association significative [201,203,204]. Six études retrouvent une diminution du risque relatif de cancer du sein associée à la région OCCR [103,148,198,199,205] ou un âge plus tardif au diagnostic [208].

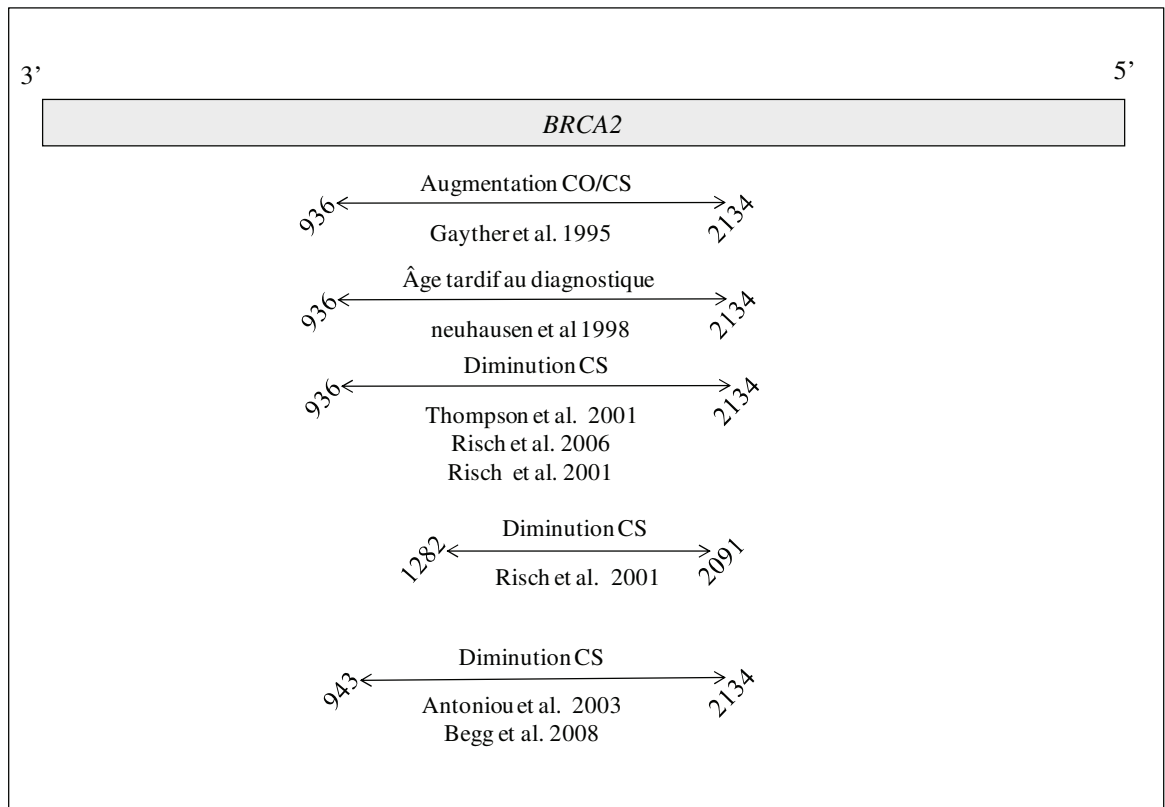


Figure 12 : Variation du risque de cancer du sein en fonction de la localisation des mutations dans le gène *BRCA2* dans la littérature

Malgré le scepticisme des biologistes moléculaires, compte tenu du peu d'explications biologiques proposées, ces variations du risque relatif de cancer du sein font aujourd'hui consensus, même si les régions et amplitudes de risque restent imprécises.

Des tentatives d'explications ont été proposées pour expliquer ces variations, comme celle de mutations soumises ou non au phénomène NMD (Nonsense-mediated decay). Bien que ce phénomène soit connu depuis plus d'une vingtaine d'années, il n'a été que récemment étudié dans le cadre des mutations sur les gènes *BRCA1* et *BRCA2*. Le NMD est un processus de surveillance de l'ARNm [209,210] identifié chez tous les organismes eucaryotes, de la levure à l'homme [211]. Le NMD est déclenché par la présence d'un codon stop prématuré sur l'ARN messager et détruit cet ARN permettant ainsi de protéger la cellule contre les effets potentiellement néfastes des protéines tronquées. Le NMD n'est pas uniquement restreint à ce rôle de protection contre les effets des mutations, mais semble également réguler l'expression de certains transcrits produits de façon physiologique dans la cellule. Cependant, selon leur localisation, les mutations tronquantes n'induisent pas toutes ce phénomène. En effet, dans la plupart des gènes, les mutations tronquantes situées dans le dernier exon ou à moins de 50 nucléotides en amont de la dernière jonction exon-exon, ne déclenchent pas le NMD [212,213]. De plus, il a été montré sur certains gènes que des mutations tronquantes très précoces ne déclenchent pas le NMD, probablement du fait d'une réinitiation de la traduction

[214]. Il a été également montré que le NMD, si activé, ne détruisait pas 100% des protéines tronquées produites. En effet, une quantité de protéines résiduelles a pu être mesurée en présence de NMD dans le cas d'une mutation tronquante du gène codant pour le collagène X [215].

Le NMD n'a pas été mis en évidence pour tous les gènes, mais a pu être décrit récemment pour le gène *BRCA1* [216] ainsi que pour le gène *BRCA2* [217].

Compte tenu de la grande quantité de mutations décrites et de l'ignorance de leur statut vis-à-vis du NMD pour la plupart, aucune étude, à ma connaissance, n'a recherché les variations du risque de cancer en fonction des mutations soumises ou non au NMD. Cependant, Sinilnikova *et al.* [139] ont proposé une classification des mutations en fonction de la présence ou de l'absence d'une protéine aberrante et tronquée. Cette classification a été utilisée dans ce travail de thèse.

Les SNPs

Les SNPs identifiés dans la population générale ont été étudiés chez les porteurs d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2* par le Consortium CIMBA (Consortium of Investigators of Modifiers of *BRCA1/2*). Ce consortium dispose d'un large échantillon de porteurs de mutation sur les gènes *BRCA1* (15 000 porteurs) ou *BRCA2* (10 000 porteurs) et s'est intéressé aux polymorphismes de gènes candidats trouvés comme étant associés au cancer du sein dans la population générale, et aux polymorphismes issus de GWAS en population générale [218].

Des effets significatifs ont été identifiés pour certains variants. Globalement, les allèles rares des SNPs à risque de la population générale ont un effet mais d'amplitude différente chez les porteurs d'une mutation de *BRCA1* ou *BRCA2*.

Au total, CIMBA a permis la mise en évidence 4 loci modifiant le risque de cancer du sein chez les porteuses de mutations sur le gène *BRCA1*. La modification du risque est particulièrement évidente pour deux SNPs (rs2046210 et rs9397435) situés près du gène *ESR1*. L'allèle mineur de ces deux SNPs augmente le risque de cancer chez les porteuses de mutations sur le gène *BRCA1* [218]. D'autres études GWAS réalisées à partir du consortium CIMBA ont mis en évidence deux SNPs indépendants (localisés en 19q13) associés à une augmentation du risque de cancer du sein pour le rs8170 (HR=1,26 [IC95%=1,17-1,35]) et à une diminution du risque de cancer du sein pour le rs2363956 (HR=0,84 [IC95%=0,80-0,89]) chez les femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* [219]. Chez les porteuses de

mutations sur le gène *BRCA2*, CIMBA a mis en évidence 9 SNPs modifiant le risque de cancer du sein [218]. L'effet le plus important rapporté est celui de l'allèle rare du SNP localisé dans le gène *FGFR2* qui augmente le risque de cancer du sein de 1,32 [IC95%=1,20-1,45 ; $p=2 \times 10^{-8}$] [145]. Ce consortium a également mis en évidence un SNP localisé en 5' du gène *RAD51* modifiant le risque de cancer du sein associé au gène *BRCA2*. Le gène *RAD51* joue un rôle important dans la réparation de l'ADN et interagit avec les gènes *BRCA1* et *BRCA2*. Chez la majorité des individus, le 135^{ème} nucléotide du gène *RAD51* est une guanine (G), de rares personnes présentent cependant une cytosine (C) à ce 135^{ème} nucléotide. Le consortium CIMBA décrit une variation du risque de cancer du sein associé au gène *BRCA2* en fonction de la nature du 135^{ème} nucléotide du gène *RAD51*. En effet, les porteurs d'une mutation dans le gène *BRCA2* hétérozygotes GC pour le 135^{ème} nucléotide de *RAD51* ne présentent pas d'augmentation du risque de cancer du sein (HR=1,17 [IC95%=0,91-1,51]), contrairement aux homozygotes CC qui présentent un risque multiplié par 3 par rapport aux homozygotes GG (HR=3,18 [IC95%=1,39-7,27]) [139].

Comme dans la population générale, l'effet d'un seul SNP en termes de risque relatif de cancer du sein des personnes prédisposées est relativement modeste. Seulement, leurs effets sur le risque absolu est beaucoup plus important puisque ce risque est beaucoup plus élevé que dans la population générale. De plus, la combinaison de plusieurs SNPs a également été associée à des risques relatifs plus élevés. Par exemple, chez les porteurs d'une mutation du gène *BRCA2*, l'effet combiné des polymorphismes à risque de *FGFR2* et *TOX3/TNRC9* (1% des porteurs) augmente de manière significative le risque de cancer du sein : il est alors de 82% à l'âge de 80 ans alors qu'il n'est que de 54% pour ceux qui ne portent aucun des allèles à risque (20% des porteurs) [145]. De manière encore plus complexe, il a été quantifié au moyen de simulations, l'effet de la combinaison de 7 SNPs chez les porteurs d'une mutation de *BRCA2* sur le risque de cancer du sein [188]. Ainsi, il a été calculé que les 5% des femmes qui portaient les allèles les plus à risque avaient entre 80% et 96% de chance de développer un cancer du sein alors que les 5% qui portent les allèles les moins à risque ont « seulement » entre 42 et 50% de chance de développer un cancer du sein (Figure 13).

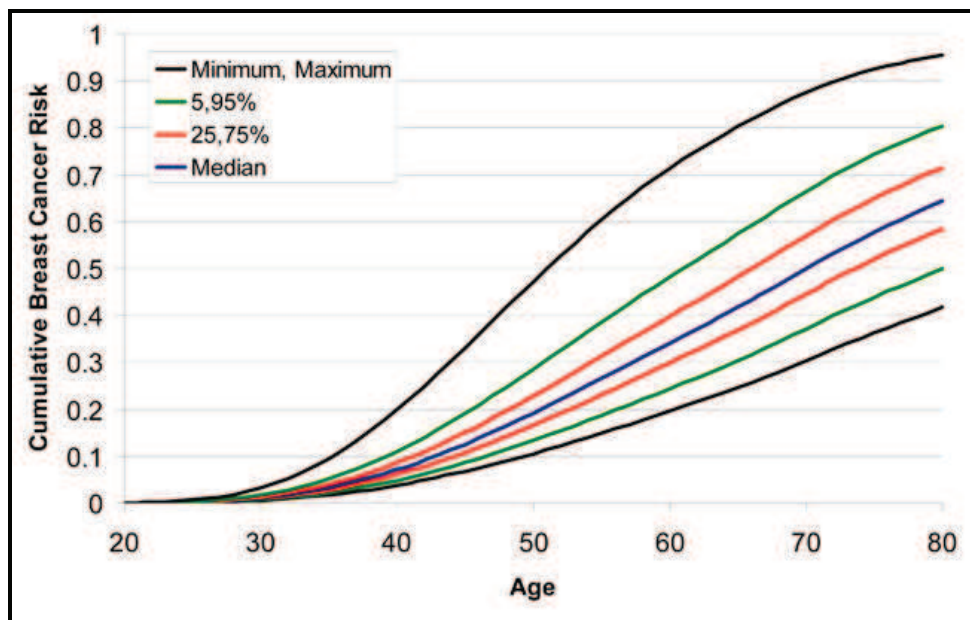


Figure 13 : Estimation du risque cumulé de cancer du sein des femmes porteuses d’une mutation du gène *BRCA2* en fonction de la combinaison génotypique de 7 SNPs à risque ; figure empruntée à Antoniou *et al.* [188]

Facteurs gynéco-obstétriques

Les gènes *BRCA1* et *BRCA2* étant impliqués à différents niveaux de la carcinogénèse, et notamment dans la réparation des lésions de l’ADN et dans la régulation du cycle cellulaire, un effet carcinogène des œstrogènes plus important chez les porteurs d’une mutation du gène *BRCA1* et/ou *BRCA2* que dans la population générale peut être envisagé. De plus, au moins quatre études ont montré que le gène *BRCA1* était également impliqué dans la répression de l’activité des récepteurs œstrogéniques α [220-223].

Age aux premières règles et à la ménopause

Peu d’études concernant les facteurs de risque non génétiques chez les porteurs d’une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2* ont été publiées. Alors qu’en population générale un âge tardif aux premières règles est souvent retrouvé associé à une diminution du risque de cancer, ce facteur n’est pas reconnu de façon consensuelle comme étant associé à un risque diminué de cancer du sein dans ce type de population. En effet, sur 5 études, 2 décrivent un effet protecteur d’un âge tardif aux premières règles, tandis que 3 ne mettent en évidence aucune association. Kotsopoulos *et al.* [224], Gronwald *et al.* [225] et Lee *et al.* [226] mettent en évidence une diminution du risque de cancer associé à un âge aux premières règles croissant uniquement chez les porteuses d’une mutation du gène *BRCA1* et pas chez les porteuses d’une mutation du gène *BRCA2*. Lee *et al.* [226] mettent en évidence une diminution significative

du risque de 30% chez les porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ayant eu leurs premières règles après l'âge de 14 ans *versus* 11 ans (HR=0,31 [IC95%=0,11-0,87]). En revanche, le Consortium IBCCS [176] ne trouve aucune association significative ni pour le gène *BRCA1*, ni pour le gène *BRCA2*. Tryggvadottir *et al.* [227] n'ont également trouvé aucune interaction entre l'âge aux premières règles et le fait d'être porteur d'une mutations dans le gène *BRCA2*.

Chang-Claude *et al.* [176], dans le cadre d'IBCCS, ont été les premiers à étudier l'effet de la ménopause sur le risque de cancer du sein chez les porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2*. Contrairement à ce qui est observé en population générale, ils n'ont pas mis en évidence de différence significative du risque en fonction de l'âge à la ménopause. En revanche, leurs résultats suggèrent un effet protecteur de la ménopause chez les porteuses d'une mutation du gène *BRCA2*, tout particulièrement pour les ménopauses provoquées par une ovariectomie bilatérale prophylactique.

Grossesses menées à terme

A ma connaissance, sept études ont étudié l'effet de la parité sur le risque de cancer du sein chez des femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2*. Contrairement à ce qui est observé en population générale, l'effet protecteur de la parité est loin de faire consensus. Les résultats diffèrent énormément d'une étude à l'autre, certaines mettant en évidence une diminution du risque de cancer associée à un nombre de grossesses menées à terme croissant [228], d'autres ne trouvant aucune association [147,226,229,230], ou encore une association positive [225]. Par ailleurs, dans le cadre d'IBCCS, Andrieu *et al.* [147] rapportent un effet différentiel d'un âge précoce à la première grossesse suivant le gène muté. En effet, leurs résultats montrent une augmentation du risque de cancer du sein associé à un âge « tardif » (supérieur à 30 ans) à la première grossesse chez les porteuses d'une mutation du gène *BRCA2*, tandis que l'estimation ponctuelle du risque montre une association inverse chez les femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1*.

Allaitement

Comme pour la population générale, l'effet protecteur de l'allaitement reste controversé chez les femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2*. Tandis que deux études n'ont montré aucune association entre l'allaitement et le risque de cancer du sein chez les femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* [147,226], trois ont trouvé un effet protecteur de l'allaitement [225,231,232]. Cinq études menées chez les femmes porteuses

d'une mutation du gène *BRCA2* n'ont montré aucune association entre l'allaitement et le risque de cancer du sein [147,225-227,231].

Interruptions de grossesses

A ma connaissance, parmi les trois études qui ont été menées sur la population des femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2*, les conclusions sont, comme en population générale, très hétérogènes. En effet, deux études ont conclu que le risque de cancer du sein n'était pas associé aux interruptions de grossesses [147,233], une étude plus récente a mis en évidence une diminution du risque de 64% chez les femmes *BRCA2* ayant subi plus de 2 interruptions thérapeutiques [234]. Cette diminution du risque n'était pas retrouvée chez les femmes *BRCA1* [234].

Prise de contraceptifs

Comme dans la population générale, les études menées sur des populations de femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2*, étudiant l'association entre l'utilisation de contraceptifs oraux et le risque de cancer du sein donnent des résultats très différents. En effet, le consortium IBCCS, montre une augmentation du risque associée à l'utilisation de contraceptifs oraux [173], alors que d'autres concluent à un effet protecteur des contraceptifs oraux [235,236]. Enfin, certaines études suggèrent un effet différentiel des contraceptifs oraux suivant le gène muté [237,238]. Une meta-analyse basée sur 18 études publiées en 2010 conclut à une augmentation du risque de cancer du sein associée à une utilisation de contraceptifs oraux antérieure à 1975 (RR=1.47 [IC95%=1.06-2.04]) [239].

Prise de traitements hormonaux substitutifs

Très peu d'études analysant l'effet des traitements hormonaux de la ménopause chez des femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2* sont disponibles dans la littérature. Contrairement à ce qui est observé en population générale, dans l'étude de Rebbeck [240], portant sur des femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* qui ont subi une ovariectomie prophylactique, le traitement hormonal substitutif ne semblait pas augmenter le risque de cancer du sein après l'intervention.

Cependant, très récemment, le consortium international IBCCS a trouvé une association entre la prise d'un traitement hormonal substitutif pendant les 5 premières années suivant la ménopause et une augmentation du risque de cancer d'un facteur 3 (HR=2,78 [IC95%=1,21-6,38]) chez les femmes prédisposées porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2*

Indice de masse corporelle

Contrairement aux études menées en population générale qui montrent une diminution du risque de cancer chez les femmes non ménopausées en surpoids et un effet inverse après la ménopause, le peu d'études réalisées sur l'IMC dans la population des femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2* donnent des résultats différents. Certaines de ces études ont étudié l'association entre la perte ou le gain de poids et le risque de cancer du sein en prenant en compte le statut vis-à-vis de la ménopause. Ainsi, Kotsopoulos *et al.* [241] ont mis en évidence une diminution du risque de cancer précoce (avant la ménopause) associée à une perte de poids de 10 pounds¹ entre l'âge de 18 ans et 30 ans (odds ratio (OR)=0.47 [IC95%=0.28–0.79]). Deux autres études trouvent une augmentation du risque relatif de cancer du sein associé à une prise de poids chez les femmes ménopausées [242,243]. D'autres études comme [244] ne mettent en évidence aucune association entre l'IMC et le risque de cancer du sein.

Consommation de tabac

Comme en population générale, l'effet du tabac chez les femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2* n'est pas consensuel. En effet, certaines études ne trouvent aucune association [225,242,245], deux un effet protecteur [246,247] et deux une association positive [248,249], Ginsburg *et al.* [248] ne mettant en évidence cette association que chez les porteuses d'une mutation du gène *BRCA1*. L'effet protecteur du tabac vis-à-vis du cancer du sein trouvé par Brunet *et al.* et Colilla *et al.* [246,247] pourrait refléter un biais de survie. En effet, la consommation de tabac étant un facteur de mauvais pronostic, un délai long entre le diagnostic et l'interview expose à un tel biais [249-254] et donc à un « déficit » de cas fumeurs amenant à conclure à tort à un effet protecteur.

Consommation d'alcool

A l'inverse des études menées en population générale, les rares études menées sur la population des femmes mutées *BRCA1* et *BRCA2*, ne montrent aucune association entre la consommation d'alcool et le risque de cancer du sein [242,255,256] à l'exception de Dennis *et al.* [257] qui montrent une diminution du risque de cancer du sein chez les femmes

¹ 10 pounds correspondent à 4,5 kg

porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* consommatrice d'alcool. Comme pour le tabac, un biais de survie pourrait être à l'origine de ces résultats.

Expositions aux radiations ionisantes

Alors que les expositions aux radiations ont été, dès la découverte du gène *ATM*, une préoccupation majeure pour donner des recommandations adaptées aux femmes porteuses d'une mutation de ce gène, elles ont été, jusqu'à récemment, peu étudiées dans le cadre des gènes *BRCA1* et *BRCA2*. Or ces gènes, rappelons le, sont tous deux impliqués dans la réparation des cassures doubles brins de l'ADN, cassures que génèrent les radiations ionisantes.

Six études du risque de cancer du sein associé aux expositions aux radiations ionisantes ont été menées sur les femmes porteuses d'une mutation dans le gène *BRCA1* ou *BRCA2* depuis 2006 [172,258-262]. Trois seulement montrent une association entre les expositions aux radiations ionisantes et une augmentation du risque de cancer du sein [172,258,258]. Une étude internationale récemment publiée met en évidence une augmentation du risque de cancer du sein d'un facteur 2 (HR=1,90 [IC95%=1,20-3,00]) chez les femmes exposées aux radiations avant l'âge de 30 ans. Cette étude met également en évidence un effet dose, avec un risque maximum de 3,84 (1,67-8,79) pour les femmes exposées à plus de 0,0174 Gray (un gray représente l'énergie absorbée par un milieu homogène d'une masse d'1 kg lorsqu'il est exposé à un rayonnement ionisant apportant une énergie d'1 joule) [258].

VI. Implications en oncogénétique

Aujourd'hui le diagnostic moléculaire des gènes *BRCA1* et *BRCA2* se fait en routine dans les services d'oncogénétique. Le suivi des femmes mutées pour ces gènes se réfère à l'estimation moyenne de ces risques sans tenir compte d'éventuelles variations.

Différentes stratégies sont proposées actuellement aux femmes indemnes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1/2*. Ces stratégies ont pour but de diminuer le risque d'apparition de cancer (mastectomie bilatérale prophylactique, annexectomie bilatérale) et/ou d'en réduire la mortalité (mastectomie bilatérale prophylactique, annexectomie bilatérale, dépistage). Avec 7%, le recours à une chirurgie prophylactique mammaire (5% mammectomie plus ovariectomie, et 2% mammectomie seulement) reste un choix minoritaire en France, mais ne cesse de progresser [263,264]. Le recours à la mammectomie prophylactique est nettement moindre que dans certains pays européens (ex : Pays Bas : 55%, UK : de 34 à 57% avec une

hétérogénéité selon les centres [265,266]). Le risque résiduel de cancer après mastectomie bilatérale dite prophylactique est vraisemblablement très faible [267-269].

La chirurgie ovarienne est beaucoup plus souvent acceptée que la chirurgie préventive mammaire [270,271] et est choisie par 38% des femmes indemnes [264]. Elle est proposée autour de l'âge de 40 ans et/ou quand le projet parental semble accompli. Son but premier est de réduire le risque de cancer de l'ovaire mais également le risque d'apparition du cancer du sein chez les patientes pré-ménopausées. Les premières études ont mis en évidence une nette réduction du risque de cancer du sein chez les femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2* qui avaient choisi la chirurgie préventive des annexes plutôt que la surveillance [240,272,273]. Cependant, deux études ont analysé le risque de cancer du sein après chirurgie ovarienne en fonction du gène et n'ont pas vu de réduction significative du risque de cancer du sein [274] ni du risque de cancer contralatéral [275] chez les femmes porteuses d'une mutation sur le gène *BRCA2*. La réduction du risque retenu pour les recommandations de prise en charge des femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2* est de l'ordre de 50 % pour *BRCA1* et incertaine pour *BRCA2*. Cependant, une étude prospective publiée en 2008 [276] sur des femmes âgées de plus de 30 ans, décrit une réduction du risque de cancer de sein de 40 % après 3 ans de suivi chez les femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* opérées par rapport aux femmes surveillées (HR=0,61 [IC95%=0,30-1,22]). Chez les femmes porteuses d'une mutation *BRCA2*, la réduction du risque de cancer du sein est de 70% chez les opérées par rapport aux femmes surveillées (HR=0,28 [IC95%=0,08-0,92]) [276]. Cette étude a également montré une réduction du nombre de tumeurs RE+ (7 *versus* 2) et l'absence de différence du nombre des tumeurs RE- (14 *versus* 11). Ces chiffres sont cohérents avec les autres études prospectives de « manipulations » hormonales dans les cancers du sein qui ont toutes montré une réduction du risque de cancer du sein RE+ sans changement pour les tumeurs RE- [277,278]. L'ovariectomie bilatérale ne réduit que partiellement le risque de cancer du sein chez les femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2*, compliquant ainsi le choix de la stratégie à adopter.

Les femmes se trouvent ainsi confrontées au choix difficile de la stratégie leur convenant le mieux en fonction de leur vécu personnel et familial, de leurs craintes, du « prix à payer » qu'elles ressentiront par rapport aux techniques chirurgicales prophylactiques et surtout en fonction de l'estimation moyenne du risque qu'elles encourent. Or, la diversité des altérations des gènes de prédisposition au cancer du sein, *BRCA1* et *BRCA2*, et celle des facteurs « environnementaux » ou de style de vie pourraient être sources d'hétérogénéité dans les risques cumulés de cancer du sein chez les femmes mutées dans ces gènes.

Ainsi, l'étude de ces variations du risque pourrait s'avérer importante pour permettre de générer des estimations du risque de cancer du sein plus personnalisées inhérent à chaque situation afin d'orienter les femmes dans le choix de la stratégie de prévention la mieux adaptée.

VII. Objectif de ma thèse

L'objectif principal de ma thèse en Génétique Statistique est donc de mieux estimer le risque de cancer et particulièrement du cancer du sein associé aux gènes *BRCA1* et *BRCA2* en étudiant leurs potentiels facteurs modificateurs que sont le type et la localisation de la mutation en tenant compte des facteurs « environnementaux/style de vie » et de leur éventuelle interaction à partir des données de la cohorte nationale française GENEPSO.

Chapitre II :

Matériels et méthodes

I. La cohorte GENEPSO

A. Le recrutement des cas et des témoins

La cohorte française GENEPSO (Gène Etude Prospective Sein Ovaire), coordonnée par Catherine Noguès, a été initiée en 2000 pour être le support de quatre projets :

1 - L'étude de l'effet des rayonnements ionisants sur la prédisposition génétique aux cancers : étude des seconds cancers chez les femmes atteintes d'un cancer du sein ou de l'ovaire et porteuses d'une mutation des gènes *BRCA1/2* (Florent de Vathaire, Inserm UMR1018, Villejuif)

2 - L'étude de l'histoire naturelle et aspects morphocliniques des cancers du sein et de l'ovaire héréditaires (Hagay Sobol, Institut Paoli-Calmettes, Marseille)

3 - L'étude des prédispositions génétiques des porteuses d'une mutation des gènes *BRCA1/2* aux cancers du sein et de l'ovaire : dynamique et déterminants des conséquences psychosociales, impact sur les comportements de santé (Claire Julian-Reynier, Inserm UMR 912, Marseille)

4 - Le projet dans lequel s'intègre mon travail de thèse, à savoir l'étude des prédispositions génétiques aux cancers du sein et de l'ovaire : évaluation des risques tumoraux associés aux mutations des gènes *BRCA1* et *BRCA2* et recherche des facteurs modificateurs liés à la reproduction et au style de vie (Nadine Andrieu, Inserm U900, Paris)

La cohorte GENEPSO est une cohorte prospective dont l'inclusion est toujours en cours et qui est aujourd'hui composée de 1563 hommes et femmes porteurs d'une mutation du gène *BRCA1* et/ou *BRCA2*. Il s'agit d'un recueil standardisé de données avec un suivi prospectif prévu sur 10 ans effectué par 29 centres du Groupe Génétique et Cancer (GGC) d'Unicancer.

Les personnes sont incluses par l'intermédiaire d'un consultant d'oncogénétique et sont toutes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2*.

Les indications d'étude des gènes *BRCA1* et *BRCA2* chez une personne qui en fait la demande reposent sur l'association d'un certain nombre de critères définis en annexe III dont je ne citerai que quelques exemples :

- Au moins trois cas de cancer du sein ou de l'ovaire chez des femmes apparentées par un lien de premier ou second degré, appartenant à la même branche parentale
- Au moins deux cas de cancer du sein chez des femmes, dont au moins un a été diagnostiqué avant l'âge de 40 ans, apparentées au premier degré ou second degré passant par un homme

- Au moins un cas de cancer du sein et un cas de cancer de l'ovaire chez deux femmes apparentées au premier degré ou second degré passant par un homme

Si l'individu consultant remplit un certain nombre de ces conditions, alors la recherche de la mutation est faite chez l'individu de la famille atteint d'un cancer à l'âge le plus jeune. Si ce dernier est porteur d'une mutation sur les gènes *BRCA1* et/ou *BRCA2*, un diagnostic moléculaire est proposé aux membres affectés ou non par le cancer.

Les porteurs d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2* se voient ainsi proposer de participer à la cohorte GENEPSO. Par ailleurs, le porteur d'une mutation peut être une femme ou un homme, atteint(e) ou non de cancer, âgé(e) de 18 ans et plus et mentalement apte à répondre à un questionnaire. L'inclusion des cas s'est terminée en 2005 pour des raisons budgétaires. Celle des non atteints se poursuit.

Les sujets sont informés des objectifs de l'étude par le consultant d'oncogénétique et signent un formulaire de consentement de participation. Un questionnaire d'inclusion est alors rempli. Il comporte d'une part des informations sur les habitudes de vie et, pour les femmes uniquement, l'histoire gynéco-obstétrique, d'autre part des informations d'ordre psychosocial et de prise en charge médicale éventuelle. Les informations médicales et biologiques sont recueillies par le consultant oncogénéticien et transmises au centre coordonnateur.

B. Le questionnaire

Le questionnaire d'inclusion est donné à la personne lors la notification des résultats de la recherche de mutations (en même temps que la note d'information et le formulaire de consentement). La personne remplit le questionnaire chez elle. Lors de la consultation suivante, la personne confirme ou non sa participation à l'étude prospective. Dans l'affirmative, l'oncogénéticien vérifie et complète si besoin le questionnaire. La date d'inclusion est définie comme la date de cette consultation.

Ce questionnaire (dont une copie se trouve en annexe IV) comporte les items suivants :

- les caractéristiques socio démographiques
- la situation maritale
- le niveau d'études
- la profession principale
- les caractéristiques anthropométriques
- l'âge aux premières règles

- les informations relatives aux grossesses et à l'allaitement
- les informations relatives aux traitements contraceptifs
- l'âge à la ménopause et le type de ménopause
- les informations relatives aux traitements hormonaux substitutifs
- les informations relatives à la consommation de tabac et d'alcool
- les éventuelles expositions thoraciques aux rayons X (hors mammographies)
- les antécédents de chirurgie mammaire ou ovarienne
- les antécédents personnels de cancer
- les maladies bénignes du sein

C. Les Facteurs étudiés

Quand les données le permettaient, les facteurs ont été étudiés à partir de variables générées dépendantes du temps.

Dans cette partie, je n'expliquerai en détail que la construction des variables les plus complexes.

Lors de mon travail de thèse, je me suis intéressée aux facteurs relatifs à la vie gynéco-obstétrique des participantes de la cohorte GENEPSO. **L'âge aux premières règles** et **la durée des cycles** ont été étudiés comme des facteurs fixes.

J'ai également étudié les facteurs relatifs aux **grossesses menées à terme**. Ces variables ont été considérées comme dépendantes du temps. Par exemple, une femme ayant eu deux grossesses menées à terme à 25 et 29 ans sera considérée comme nullipare de la naissance à l'âge de 25 ans, puis dans la catégorie « une grossesse menée à terme » de 25 à 28 ans, puis dans la catégorie « deux grossesses menées à terme » de 29 ans à la censure. De la même façon, l'âge à la première grossesse est étudié comme variable dépendante du temps. Ainsi la femme de l'exemple précédent est considérée comme nullipare jusqu'à l'âge de 25 ans, puis à 25 ans elle entre dans la catégorie des femmes ayant eu leur première grossesse entre 25 et 30 ans, et ce jusqu'à la censure. Pour étudier l'effet du nombre de grossesses menées à terme avant et après 40 ans, j'ai procédé de la même façon que précédemment. Par exemple, une femme ayant deux enfants à l'âge de 30 ans entre dans la catégorie des femmes de moins de 40 ans ayant deux enfants et ce, de 30 à 40 ans. A partir de 40 ans, elle passe dans la catégorie des femmes de plus de 40 ans ayant deux enfants.

L'**allaitement** est également étudié en temps cumulé sous la forme d'une variable dépendante du temps. Ainsi, une femme ayant allaité pendant 3 mois à l'âge de 25 ans son premier enfant contribue à la classe des femmes ayant allaité moins de 5 mois, et ce, de ses 25 ans jusqu'à sa deuxième période d'allaitement qui a eu lieu à l'âge de 29 ans et a duré 6 mois. A partir de cette deuxième période, viendront s'ajouter aux 3 mois d'allaitement considérés jusqu'alors, les 6 mois d'allaitement relatifs à cette deuxième grossesse menée à terme. Ainsi, de l'âge de 29 ans à la censure, cette femme contribuera à la classe des femmes ayant allaité entre 5 et 10 mois.

Les **grossesses interrompues** ont été étudiées de la même façon que les grossesses menées à terme. J'ai cependant dû générer des variables pour le type d'interruption (spontanée ou induite) ainsi qu'une variable permettant d'étudier le risque associé aux grossesses interrompues avant ou après la première grossesse menée à terme.

L'utilisation de **traitement contraceptif** a été étudiée en générant plusieurs variables dépendantes du temps, comme le temps cumulé d'utilisation, l'âge à la première utilisation ou le temps depuis la dernière utilisation. La Figure 14 illustre la construction de ces variables à partir d'un exemple. Une femme a utilisé pour la première fois un contraceptif oral à l'âge de 15 ans. Elle utilise ce traitement jusqu'à l'âge de 20 ans. A l'âge de 25 ans, elle commence un second et dernier traitement qu'elle prend jusqu'à l'âge de 28 ans.

Age de la participante	Durée cumulée des traitements contraceptifs	Temps cumulé depuis le dernier traitement contraceptif		
1 an	0	jamais utilisé	0 année d'utilisation	N'a jamais utilisé de traitement contraceptif
2 ans	0	jamais utilisé		
3 ans	0	jamais utilisé		
...	0	jamais utilisé		
14 ans	0	jamais utilisé		
15 ans	1	0	De 1 à 5 ans d'utilisation	Utilise «actuellement» un traitement contraceptif
16 ans	2	0		
17 ans	3	0		
18 ans	4	0		
19 ans	5	0		
20 ans	6	0	Plus de 5 ans d'utilisation	A arrêté d'utiliser un traitement contraceptif depuis moins de 5 ans
21 ans	6	1		
22 ans	6	2		
23 ans	6	3		Utilise «actuellement» un traitement contraceptif
24 ans	6	4		
25 ans	7	0		
26 ans	8	0		A arrêté d'utiliser un traitement contraceptif depuis moins de 5 ans
27 ans	9	0		
28 ans	10	1		
29 ans	10	2		
30 ans	10	3		
31 ans	10	4		
32 ans	10	5		

Figure 14 : Illustration des variables générées pour étudier la durée cumulée d'utilisation de contraceptif au cours de la vie, et le temps écoulé depuis le dernier traitement contraceptif

Jusqu'à 15 ans, cette femme contribue à la catégorie des femmes n'ayant jamais utilisé de traitement contraceptif, puis à partir de 15 ans, les années d'utilisations sont cumulées jusqu'à la censure. Ainsi, de l'âge de 15 ans à l'âge de 19 ans, cette femme contribue à la catégorie des femmes ayant utilisé un traitement contraceptif pendant 1 à 5 ans. Puis de 20 ans à la censure, elle contribue à la catégorie des femmes ayant utilisé un traitement contraceptif pendant plus de 5 ans.

La variable représentant le temps cumulé depuis la dernière utilisation de traitement contraceptif est construite sur un principe similaire. Il faut noter que les femmes ayant arrêté leur contraception depuis moins d'un an sont regroupées avec les femmes dont le traitement contraceptif est en cours. Compte tenu du fait que le temps est pris en compte en années, pour les cas ayant arrêté depuis moins d'un an, il n'est pas possible de savoir si cet arrêt se situe avant ou après le diagnostic.

La ménopause a été une variable particulièrement complexe à générer. En effet, dans le questionnaire, la question relative à la ménopause est posée de façon indirecte. Il est demandé aux femmes à combien de temps remontent leurs dernières règles (en jours, en mois ou en années) ainsi que la raison de cette interruption si celle-ci remonte à plus d'un an (grossesse et

allaitement, ménopause naturelle, médicament, hystérectomie, ovariectomie bilatérale, radiothérapie, chimiothérapie ou autres causes à préciser). Pour être considérée comme ménopausée, une femme doit ne plus avoir de règles depuis au moins un an, pour cause de ménopause naturelle ou avoir subi une ovariectomie bilatérale ou avoir plus de 55 ans. Parfois les deux ovaires ne sont pas retirés simultanément, la femme n'est alors considérée comme ménopausée que lors de l'ablation du deuxième ovaire. Une femme n'ayant plus ses règles depuis plus d'un an pour toute autre raison, par exemple une hystérectomie, n'est pas considérée comme étant ménopausée, mais comme ayant un statut inconnu vis-à-vis de la ménopause et donc appartenant à une catégorie « autres raisons à l'arrêt des règles », et ce jusqu'à l'âge de 55 ans ou jusqu'à l'âge d'une éventuelle ovariectomie bilatérale intervenant avant 55 ans. J'ai généré d'autres variables afin d'étudier la ménopause comme l'âge à la ménopause ou le temps écoulé depuis la ménopause.

L'utilisation de traitements hormonaux substitutifs (THS) a été étudiée en générant plusieurs variables semblables à celles créées pour l'étude des traitements contraceptifs, uniquement chez les femmes ménopausées.

J'ai également étudié certains facteurs relatifs à l'exposition à certains agents carcinogènes comme le tabac.

La consommation de tabac a été étudiée en générant plusieurs variables dépendantes du temps. En effet, le questionnaire comporte l'âge de début de consommation de tabac, si la personne fume toujours à la date du questionnaire, sinon depuis combien de temps elle a arrêté, le nombre de cigarettes consommées quotidiennement et enfin, pendant combien d'années elle a fumé en ayant déduit les périodes d'interruption. Ainsi, j'ai généré une variable comportant trois catégories : la catégorie des femmes n'ayant jamais fumé, celle des femmes fumant « actuellement » et enfin la catégorie des femmes ayant arrêté de fumer. Ainsi, une femme contribue à la catégorie des femmes n'ayant jamais fumé de sa naissance jusqu'à sa première cigarette. Puis de son âge à sa première cigarette jusqu'à l'arrêt du tabac (si arrêt) ou jusqu'à la censure, elle contribue à la catégorie des femmes fumant « actuellement ». Enfin, si la participante déclare avoir arrêté de fumer, elle contribue à la catégorie des femmes ayant arrêté de fumer de l'âge à l'arrêt, jusqu'à la censure. J'ai également étudié la quantité cumulée de tabac consommée au cours de la vie des participantes estimée en paquets-année (PA). Un paquet-année (PA) correspond à la consommation d'un paquet de cigarettes par jour pendant une année. Par exemple, on attribue à une femme ayant fumé 20 cigarettes par jour (c'est-à-dire un paquet) pendant 15 ans, 15 paquets-année. Pour

illustrer cette variable, la Figure 15 présente le cas concret d'une femme ayant fumé de l'âge de 16 ans à l'âge de 35 ans un demi paquet de cigarettes par jour. Jusqu'à 16 ans, cette femme a donc fumé 0 paquet-année. Puis à partir de 16 ans, on ajoute chaque année le nombre de paquets de cigarettes fumés par jour, c'est-à-dire dans le cas de cette femme 0,5 paquet de cigarettes. Ainsi, à 16 ans cette femme aura consommé l'équivalent de 0,5 paquet-année, puis à 17 ans 1 paquet-année, à 18 ans 1,5 paquets-année, *et cætera* jusqu'à 35 ans, âge auquel elle arrête de fumer. A l'âge de 35 ans, cette femme aura une consommation cumulée de 10 paquets-année et cette valeur lui sera attribuée jusqu'à l'âge de 37 ans, âge à la censure. La variable « nombre de paquets-année » a ensuite été discrétisée en plusieurs classes : 0 PA ou moins de 5 PA, entre 6 et 20 PA, plus de 21 PA.

Age de la participante	Nombre de paquet-années		
1 an	0	0 PA	N'a jamais fumé
2 ans	0		
3 ans	0		
...	0		
14 ans	0		
15 ans	0	De 1 à 5 PA	fume «actuellement»
16 ans	0,5		
17 ans	1		
18 ans	1,5		
19 ans	2		
20 ans	2,5	De 6 à 20 PA	A arrêté de fumer
21 ans	3		
...	...		
33 ans	9		
34 ans	9,5		
35 ans	10		
36 ans	10		
37 ans	10		

Figure 15 : Illustration des variables générées pour étudier la consommation de tabac au cours de la vie

Cependant, ces variables ne prennent pas en compte le nombre d'années réelles de tabagisme, puisque certaines femmes ont, à plusieurs reprises, arrêté de fumer, puis repris. Le questionnaire donne cette information, sans précision sur le calendrier de ces arrêts provisoires. J'ai donc généré une variable pour la durée totale de ces périodes d'arrêts provisoires, c'est-à-dire :

Durée totale de ces périodes d'arrêts « provisoires » = Age à la dernière consommation de tabac - Age à la première consommation de tabac - Nombre d'années de tabagisme

Cette variable a servi de variable d'ajustement lors de l'analyse de la quantité cumulée de tabac consommé au cours de la vie.

J'ai également étudié le temps écoulé depuis la dernière consommation de tabac. Cette variable est générée sur un principe similaire à celui utilisé pour le temps écoulé depuis la dernière utilisation de traitement contraceptif.

Concernant les renseignements relatifs à **la consommation d'alcool**, le questionnaire était assez précis sur les types et les quantités d'alcool consommés. Cependant, les participantes ne sont interrogées que pour leur consommation vers l'âge de 20 ans et pour leur consommation à la date du questionnaire. Ne disposant pas d'assez d'informations permettant de modéliser la consommation d'alcool au cours du temps, celle-ci a été étudiée par le biais de variables fixes.

Les expositions thoraciques aux rayons X (hors mammographies) ont été étudiées en générant plusieurs variables. Comme pour la consommation d'alcool, disposant de très peu d'informations relatives aux périodes d'exposition, j'ai généré des variables fixes. Il est demandé aux femmes de renseigner le nombre de radios thoraciques subies avant l'âge de 20 ans d'une part, et depuis l'âge de 20 ans d'autre part, comme le montre l'extrait du questionnaire ci-dessous.

Période	0 radios	Moins de 5 radios	5 radios ou plus
Avant l'âge de 20 ans			
À 20 ans et plus			

L'âge à la première (avant 20 ans ou après 20 ans), et le niveau d'exposition (aucune exposition, une seule période de 1 à 4 expositions, deux périodes de 1 à 4 expositions, au moins une période de 5 ou plus expositions) ont été générés (*cf.* Figure 16).

Age lors de l'exposition	Aucune exposition	Entre 1 et 4 expositions	Au moins 5 expositions	
avant 20 ans	X			Aucune exposition
après 20 ans	X			
avant 20 ans	X			Une seule période de 1 à 4 expositions aux rayons X
après 20 ans		X		
avant 20 ans		X		Deux périodes de 1 à 4 expositions aux rayons X
après 20 ans	X			
avant 20 ans		X		Au moins une période de 5 ou plus expositions aux rayons X
après 20 ans		X		
avant 20 ans			X	
après 20 ans				
avant 20 ans		X		
après 20 ans			X	
avant 20 ans			X	
après 20 ans			X	
avant 20 ans	X			
après 20 ans			X	
avant 20 ans			X	
après 20 ans	X			

Figure 16 : Illustration des variables générées pour étudier l'exposition thoracique aux rayons X au cours de la vie

Il faut cependant noter que certaines femmes appartenant à la catégorie « au moins une période de 5 ou plus expositions » peuvent avoir été moins exposées que celles appartenant à la catégorie « deux périodes de 1 à 4 expositions » (exemple : une seule période avec 6 expositions *versus* deux périodes avec 4 expositions, soit 8 expositions).

Enfin, j'ai calculé **l'IMC à la date du questionnaire** selon sa définition :

$$\text{IMC} = \text{poids (en kg)} / \text{taille}^2 \text{ (en m)}$$

J'ai ensuite discrétisé cette variable en trois classes, correspondant aux catégories utilisées par l'Organisation Mondiale de la Santé c'est-à-dire : une catégorie correspondant à une corpulence normale : entre 18,5 et 25, une catégorie correspondant à un état de maigreur : strictement inférieur à 18,5, et enfin une catégorie correspondant à un surpoids : supérieur ou égal à 25.

D. Recherche de mutations

Différentes techniques ont été utilisées pour détecter les mutations sur les gènes *BRCA1/2*. Les variants sont recherchés dans l'intégralité des séquences codantes et les jonctions exon-intron des gènes *BRCA1* et *BRCA2* par des méthodes basées sur le pré-screening (DGGE,

SSCP, PTA, dHPLC, HRM or EMMA) et le séquençage. De nombreux larges réarrangements ont été identifiés par le « large cDNA sequencing », MLPA [279], QMPST [280], qPCR [281], qPCR HRM [282], EMMA [283], bar code screening [284] ou dedicated array CGH [285]. Les mutations ont été codées et décrites de façon standardisée par rapport à la nomenclature internationale par Rosette Lidereau (Institut Curie, Hôpital de St Cloud, Saint Cloud). Le type et la localisation des mutations sont ainsi connus de façon précise pour chaque individu inclus dans la cohorte (la distribution des mutations est présentée en annexe V).

II. Analyse des données de la cohorte GENEPSO

A. La censure

Les analyses ont été menées sur les données rétrospectives des 1337 femmes (appartenant à 987 familles différentes) incluses entre 2000 et 2010, dont 772 étaient indemnes de cancer et 563 avaient eu un cancer du sein. Parmi ces femmes, 863 (soit 65%) sont porteuses d'une mutation sur le gène *BRCA1* et 474 (soit 35%) sur le gène *BRCA2*.

Pour déterminer la date de censure, j'ai considéré trois types d'événements : les cancers quelque soit leur localisation (à l'exclusion des cancers basocellulaires), les mastectomies bilatérales et l'inclusion. La date à la censure est la date du premier de ces trois événements (*cf.* Figure 17). Ainsi, parmi les 1337 femmes incluses dans la cohorte, 11 ont été censurées à la date d'une mastectomie bilatérale, 89 à la date d'un cancer de l'ovaire, 16 à la date d'un cancer à localisation autre qu'ovaire et sein, 499 à la date d'un cancer du sein et enfin 722 à la date de l'interview. Ainsi 499 femmes ont été considérées comme atteintes d'un cancer du sein et 838 indemnes. Parmi les 499 cas de cancer du sein, 332 sont porteuses d'une mutation dans le gène *BRCA1* (soit 67 %) et 167 dans le gène *BRCA2* (soit 33 %).

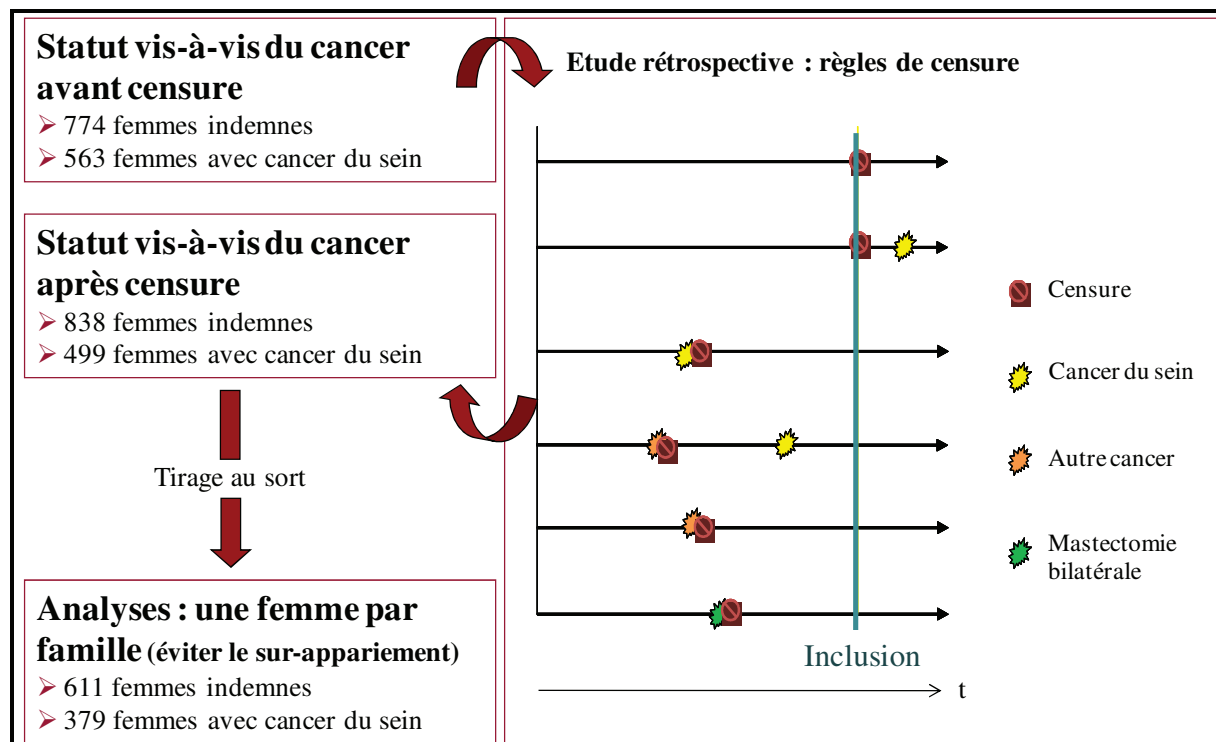


Figure 17 : Illustration de la méthode de censure

Parmi les 1337 femmes de la cohorte GENEPSO, certaines femmes sont apparentées (987 familles différentes) et portent la même mutation. De façon à éviter un sur-appariement sur la mutation, un échantillon avec une femme par famille a été créé par tirage au sort. Pour une famille, deux femmes apparentées porteuses de deux mutations différentes ont été considérées comme non apparentées. D'autre part, deux femmes, porteuses d'une mutation sur chaque gènes, ont été dupliquées. Ainsi l'échantillon avec une femme par famille compte finalement 990 femmes. Par la suite, je nommerai cet échantillon « une femme par famille » en opposition à la cohorte « entière ». Les caractéristiques de cette cohorte « une femme par famille » ne diffèrent pas de celles de la cohorte « entière » (cf. Tableau 5).

Compte tenu du délai moyen de 8 ans, entre la date de diagnostic de cancer du sein et la date d'inclusion, il n'est pas exclu que les femmes atteintes de cancer du sein de « meilleur » pronostic soient sur-représentées dans la cohorte. Une cohorte dite « pseudo-incidente » est donc établie à partir de la cohorte entière pour mettre en évidence un éventuel biais de survie. Cette cohorte pseudo-incidente est composée des cas de cancer du sein diagnostiqués au maximum 5 ans avant la date d'inclusion. Le délai de 5 ans a été choisi compte tenu du faible taux de décès dans les premières années après le diagnostic (survie globale à 5 ans supérieure à 90%) [15].

Par ailleurs, les grossesses ayant eu lieu moins d'une année avant le diagnostic de cancer du sein ont été censurées pour éliminer un potentiel « artefact » dû aux cancers du sein diagnostiqués au cours ou à la suite d'une grossesse du fait de l'important suivi médical qui accompagne les grossesses.

B. Modèle « général » de régression

Une régression est l'analyse de la relation entre une variable et d'autres informations ou covariables. Par exemple, on peut s'intéresser à la relation entre le taux de cholestérol sanguin et un ensemble de caractéristiques décrivant chaque sujet tel que le poids, le sexe et l'âge. On peut aussi vouloir étudier la relation entre le fait d'avoir ou non un cancer du sein et la quantité de tabac fumé, ou la relation entre la survie après le diagnostic de cancer du sein et des caractéristiques de la maladie comme le stade et l'histologie. Dans chacun de ces exemples, on essaie de prédire respectivement le cholestérol, le fait d'avoir un cancer du sein et la durée de survie après cancer du sein à partir d'autres variables appelées covariables ou variables explicatives.

Ainsi, la variable que l'on cherche à expliquer peut être soit une mesure (le cholestérol sanguin), soit une variable binaire (le fait d'être atteint d'un cancer du sein ou non), soit une durée de survie qui, en général, implique des données censurées si tous les sujets ne sont pas morts. On note la variable à expliquer Y . Les variables explicatives seront notées $X_1, X_2, \text{etc.}$ S'il n'y a qu'une variable explicative, on parle de régression simple. S'il y en a au moins deux, on parle de régression multiple. Pour être dans le cas le plus simple de la régression multiple, on supposera pour la suite qu'il n'y a que deux variables explicatives.

Un modèle de régression est une relation fonctionnelle entre Y et X_1 et X_2 . En général, on ne s'attend pas à ce que les variables explicatives expliquent Y exactement, mais avec une certaine imprécision. Le modèle général de régression s'écrit :

$$Y = f(X_1, X_2).$$

Les principaux modèles utilisés sont la régression linéaire multiple, la régression logistique ou le modèle logit, le modèle de Cox, *etc.*

Le choix du type de modèle est lié à la nature des variables considérées.

- La régression linéaire multiple : la variable à expliquer est quantitative, sa distribution est normale.

- La régression logistique : la variable à expliquer est dichotomique, les variables explicatives peuvent être qualitatives ou quantitatives. Ce modèle permet de déterminer la probabilité de survenue de l'événement étudié en fonction des facteurs explicatifs.
- Le modèle de Cox : la variable expliquée est dichotomique, les variables explicatives peuvent être qualitatives ou quantitatives. Ce modèle permet d'exprimer le risque instantané de survenue d'un événement en fonction des facteurs explicatifs.

C. Le modèle de Cox

Le modèle de régression à risque proportionnel proposé par Cox en 1972 [286,287] pour étudier la relation entre le temps d'apparition d'un événement et un ensemble de covariables en présence de censure est, sans conteste, le modèle le plus utilisé pour l'analyse des données de survie.

Les données sont analysées avec un modèle de Cox à l'aide du logiciel STATA (version 10; Stata Corporation, College Station TX). Ce modèle permet d'exprimer la relation entre l'incidence instantanée associée à la survenue d'un cancer du sein et des variables X_i qui peuvent être quantitatives ou qualitatives dépendantes ou non du temps. Les facteurs X_i sont des facteurs de risque et des facteurs de confusion potentiels.

Si $\lambda(t)$ est le risque de survenue d'un cancer du sein à l'instant t pour un sujet indemne juste avant t , alors le modèle de Cox exprime $\lambda(t)$ en fonction du temps et des variables X_i de la façon suivante :

$$\lambda(t, X_1, \dots, X_p) = \lambda_0(t) \exp\left(\sum_{i=1}^p \beta_i X_i\right)$$

Le temps n'intervient dans l'équation que par la fonction $\lambda_0(t)$ qui est égale au risque instantané de maladie des sujets pour lesquels toutes les variables X_i sont égales à 0, c'est-à-dire que $\lambda_0(t)$ représente la valeur de base qui est celle des sujets ne présentant aucun des facteurs de risque potentiels X_i .

Dans le modèle de Cox, la forme de la fonction $\lambda_0(t)$ n'est pas imposée. On évalue donc l'excès de risque associé à l'exposition à un facteur de risque. Il s'agit d'un modèle semi paramétrique, $\lambda_0(t)$ étant la partie « non paramétrée » de l'équation. L'association entre les facteurs de risque X_i et la survenue de la maladie est mesurée par les coefficients β_i ¹. Ces

¹ Les coefficients β_i étant difficilement interprétables, les hazards ratios notés HR ($HR = \exp(\beta_i)$) sont préférentiellement utilisés dans la littérature.

coefficients β_i ne dépendent pas du temps, ce qui signifie que l'association étudiée est constante au cours du temps. Cependant, cette hypothèse très forte du modèle de Cox peut être testée par l'introduction dans le modèle d'un paramètre d'interaction entre X_i et t . Pour s'affranchir de cette hypothèse, il est également possible d'analyser les variables X_i comme des variables dépendantes de t . Ceci permet également de tenir compte de la « cinétique » des variables au cours du temps et également d'éviter le biais dû au « temps immortel » (immortal time bias). En effet, ce type de biais survient lorsque le design de l'étude implique l'existence d'un intervalle de temps pendant lequel l'événement étudié ne peut pas survenir. En 1885 déjà, un biais était suggéré dans une étude selon laquelle les papes vivaient plus longtemps que les artistes [288,289]. Ce même biais en version plus moderne : les lauréats des Oscars vivent plus longtemps que leurs pairs non récompensés [290]. En effet, les papes comme les vainqueurs des Oscars doivent attendre de nombreuses années pour être élus, à un âge moyennement (voire beaucoup) plus élevé que ceux qui ne sont pas élus. Ainsi si les témoins sont systématiquement plus âgés que les cas (ou inversement) au moment de l'interview, ils auront une plus grande probabilité d'être exposés à des événements plus tardifs. Si dans la cohorte GENEPSO, les femmes indemnes de cancer du sein sont plus âgées que les femmes ayant eu un cancer du sein au moment de l'interview, elles ont une plus grande probabilité d'être ménopausées. Si la variable représentant le statut ménopausique est fixe, alors la majorité des témoins se verront affecter le statut « ménopausée » quelque soit leur âge, et seront comparées aux cas plus souvent « non ménopausées ». L'exemple illustré par la Figure 18 présente le cas de deux femmes. La femme A est considérée comme non atteinte de cancer du sein à la censure, c'est-à-dire à 50 ans lors de son inclusion dans la cohorte. Cette femme a donc un âge à la censure supérieur à celui de la femme B qui est censurée à l'âge auquel elle a développé un cancer du sein, soit à l'âge de 43 ans. La femme B est incluse à un âge inférieur à celui de la femme A (50 ans *versus* 45 ans), et contrairement à la femme A, n'est pas ménopausée au jour de l'inclusion. Si le statut ménopausique est représenté par une variable fixe, la femme A est considérée comme ménopausée depuis la naissance jusqu'à la censure. Ainsi, témoin de la femme B, elle sera considérée à tort comme étant ménopausée à l'âge de 43 ans. Donc, si cette configuration est généralisée à l'ensemble de la cohorte, on risque de mettre en évidence un effet protecteur à la ménopause à tort. Ce biais est évité lorsque la variable représentant la ménopause est dépendante du temps puisqu'au moment de la comparaison entre les témoins et les cas, on attribue aux femmes leur « véritable » statut ménopausique. Le biais du « temps immortel » peut être donc considéré comme un biais de sélection et/ou de classification.

	Chronologie des évènements	Statut ménopausique en fixe		Statut ménopausique en « dépendant du temps »	
Age	Femme A Femme B	Femme A	Femme B	Femme A	Femme B
1		M+	M-	M-	M-
2		M+	M-	M-	M-
3		M+	M-	M-	M-
4		M+	M-	M-	M-
5		M+	M-	M-	M-
6		M+	M-	M-	M-
7		M+	M-	M-	M-
...		M+	M-	M-	M-
40		M+	M-	M-	M-
41		M+	M-	M-	M-
42		M+	M-	M-	M-
43	Cancer du sein	M+	M-	M-	M-
44		M+	M-	M-	M-
45	Interview	M+	M-	M-	M-
46		M+	M-	M-	M-
47		M+	M-	M-	M-
48	Ménopause	M+	M-	M+	M-
49	Ménopause	M+	M-	M+	M+
50	Interview	M+	M-	M+	M+
51		M+	M-	M+	M+
52		M+	M-	M+	M+

Figure 18 : Illustration du biais de temps immortel

Les sujets inclus dans la cohorte GENEPSO appartiennent à des familles présentant de nombreux cas de cancer du sein ou de cancer de l’ovaire et suivis dans les services d’Oncogénétique. La sélection des sujets de la cohorte est donc non indépendante du statut vis-à-vis du cancer du sein. De plus, les sujets atteints et non atteints ont probablement été inclus dans la cohorte avec des probabilités différentes à chaque âge puisque le diagnostic moléculaire est généralement fait, dans un premier temps, chez le sujet atteint à l’âge le plus précoce dans la famille. De ce fait, les porteurs d’une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2* dans la cohorte GENEPSO ne représentent pas une « vraie » cohorte de porteurs de ces mutations.

Il a été montré que, dans ces conditions, l’analyse utilisant un modèle de Cox standard aboutit à des estimations biaisées des hazard ratios [175]. Une méthode pondérée a été proposée par Antoniou *et al.* [175] pour corriger ce biais de sélection. Elle permet de prendre en compte la probabilité d’être inclus dans l’étude. Les poids sont calculés de sorte que l’incidence de cancer du sein dans la cohorte GENEPSO soit égale à l’incidence de cancer du sein ($\mu(t)$) dans une population de référence de femmes mutées dans les gènes *BRCA1* et/ou *BRCA2*. Pour cette étude, nous avons choisi d’utiliser les incidences calculées par Antoniou *et al.* [103] en 2003 en regroupant les données de 22 études. Cette étude a été menée sur les

données familiales de 8139 cas index non sélectionnés pour leur histoire familiale dont 500 étaient porteurs d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2*.

L'âge à la censure est divisé en k intervalles avec dans le $k^{\text{ième}}$ groupe, r_k individus atteints de cancer du sein et s_k individus non atteints. p_k et q_k sont respectivement le nombre de personne-années cumulées par les cas et par les individus non atteints dans le groupe d'âge k .

Les données d'incidence à notre disposition sont celles publiées par Antoniou *et al.* [103] et ont été estimées pour $k=11$ classes d'âge (*cf.* Tableau 2). Nous faisons l'hypothèse que les individus inclus dans GENEPSO proviennent de la même population que la population de référence avec des taux d'incidences $\mu(t)$ et que $\mu(t)$ est connu.

Tableau 2 : Incidences de cancer du sein et de l'ovaire estimées chez les porteuses de mutation sur les gènes *BRCA1* ou *BRCA2* (extrait de Antoniou *et al.* [103])

Table 4. Estimated Breast and Ovarian Cancer Incidence (%) in Mutation Carriers				
AGE GROUP	ESTIMATED CANCER INCIDENCE FOR CARRIERS OF MUTATIONS IN			
	<i>BRCA1</i>		<i>BRCA2</i>	
	Breast Cancer	Ovarian Cancer	Breast Cancer	Ovarian Cancer
20–24 years	.02	.001	.02	.001
25–29 years	.11	.002	.12	.002
30–34 years	.74	.18	.36	.004
35–39 years	1.59	.28	.78	.01
40–44 years	2.92	.87	.91	.08
45–49 years	4.28	1.49	1.34	.14
50–54 years	2.65	.96	1.76	.60
55–59 years	3.01	1.19	2.00	.75
60–64 years	2.70	2.26	2.17	.38
65–69 years	2.96	2.49	2.38	.42

w_k est le poids attribué au cas du groupe k , et v_k celui attribué aux individus non atteints de ce même groupe de façon à ce que :

$$\mu_k = \frac{r_k w_k}{w_k p_k + v_k q_k + t_k \sum_{l>k} (v_l s_l + w_l r_l)}$$

Dans cette expression, le numérateur représente le nombre de cas pondéré dans la classe d'âge k . Le dénominateur représente le nombre total de personne-années cumulées dans la classe d'âge k par tous les individus à risque de ce groupe (les atteints et les non atteints) plus le nombre total de personne-années cumulées par tous les individus au temps t_l avec $l > k$. Cette équation à deux inconnues, w_k et v_k , peut être résolue en rajoutant la contrainte que le nombre d'individus dans la classe d'âge k après pondération soit égale au nombre d'individus dans cette même classe d'âge avant pondération soit :

$$\frac{w_k r_k + v_k s_k}{r_k + s_k} = 1$$

Nous en déduisons ainsi :

$$w_k = \frac{\mu_k (q_k (r_k + s_k) + t_k s_k \sum_{l>k} (s_l + r_l))}{r_k s_k + \mu_k (q_k r_k - p_k s_k)}$$

$$v_k = \frac{1}{s_k} (r_k + s_k - w_k w_k)$$

Cette méthode impose que les classes d'âge soient non vides, c'est-à-dire r_k et $s_k > 0$ et que l'étude ait un nombre suffisamment grand de sujets pour que :

$$r_k > \mu_k p_k \frac{s_k}{s_k + \mu_k q_k}$$

$$w_k < 1 + \frac{s_k}{r_k}$$

Le programme Excel non publié, développé par Antonis Antoniou permettant le calcul des poids est présenté en annexe VI.

D. Variation du risque de cancer du sein associée à la localisation des mutations dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2*

L'étude des mutations a été une partie majeure de mon travail de thèse. Pour ce faire, je disposais de la description précise de chaque mutation présente dans la cohorte GENEPSO établie suivant la nomenclature internationale. Cette description consiste en l'identification du gène muté (*BRCA1* ou *BRCA2*), de l'exon muté, de la localisation de la mutation en termes de nucléotide et en termes de codon, du type de mutation (mutation non-sens, délétion, insertion,

faux sens, délétion partielle ou entière du gène), l'effet de la mutation sur la protéine (par exemple : apparition d'un codon stop prématuré, saut d'exon, *etc.*) et la localisation du codon stop prématuré lorsque la mutation aboutit à un décalage du cadre de lecture (insertion ou délétion).

A partir de ces informations, j'ai classé les mutations délétères en deux groupes : les mutations tronquantes (mutation non-sens, délétion ou insertion aboutissant à un décalage du cadre de lecture) et les mutations « autre type » (incluant les mutations faux sens, les délétions ou insertions avec conservation du cadre de lecture, les délétions partielles ou entières du gène).

La localisation des mutations a été étudiée pour les mutations tronquantes. Les mutations « autres type » étaient trop peu nombreuses pour être étudiées en détail. Pour l'étude de la localisation des mutations, je me suis intéressée à la localisation de la mutation elle-même et non à la localisation du codon stop prématuré. Cette décision a été motivée par le fait qu'entre la mutation tronquante et le codon stop prématuré, le décalage du cadre de lecture a pour conséquence une séquence d'acides aminés aberrante.

Pour déterminer d'éventuelles zones de variation du risque de cancer du sein, deux approches ont été utilisées, une approche gnostique et une approche agnostique.

1. Approche gnostique

a) Analyse par domaine fonctionnel

Dans un premier temps, j'ai étudié le risque de cancer du sein associé à la conservation des domaines fonctionnels des gènes *BRCA1* et *BRCA2*. Le domaine est considéré comme « conservé » uniquement si la mutation tronquante se situe après le dernier codon du domaine. J'ai tout d'abord procédé à des analyses domaine par domaine, en comparant les mutations tronquantes préservant l'intégrité du domaine d'intérêt aux mutations situées en dehors du domaine. Dans un second temps, j'ai considéré les domaines dans leur ensemble en comparant les mutations tronquantes conservant un domaine, ou deux, ou trois, *etc.* aux mutations ne conservant aucun domaine. J'ai donc généré une variable dichotomique par domaine et une variable à $n > 2$ classes pour l'ensemble des domaines. J'ai réalisé des analyses sur les domaines alors connus en 2008 (début de ma thèse), c'est-à-dire RING, NLS1 (NLS2 étant non fonctionnel, il n'a pas été considéré dans l'analyse), le domaine de liaison à l'ADN, le domaine coiled-coil et les domaines BRCT1 et BRCT2. Pour *BRCA2*, j'ai considéré le domaine d'activation de la transcription, les huit domaines BCR, le domaine DBD et le domaine NLS1 (aucune femme n'est porteuse de mutation conservant les domaines NLS2 et NLS3).

b) Analyse en fonction du phénomène NMD

J'ai également étudié le risque de cancer du sein associé à l'initiation ou non du phénomène NMD. Le phénomène NMD est déclenché par la présence d'un codon stop prématuré sur l'ARN messager qui sera ainsi détruit. Ce phénomène empêchant la fabrication d'une protéine aberrante et tronquée n'est pas induit par toutes les mutations tronquantes.

Pour cette analyse, j'ai utilisé la classification des mutations tronquantes en fonction de la présence ou de l'absence de protéine tronquée établie par Olga Sinilnikova [139]. Il est à noter que le statut vis-à-vis du NMD est inconnu pour 20% des mutations de la cohorte GENEPSO.

2. Approche agnostique

Pour déterminer les éventuelles régions de variation du risque de cancer du sein dans les gènes BRCA1 et BRCA2, une approche naïve a également été utilisée. C'est cette approche qui a été retenue pour les publications [291,292]. Les gènes ont été divisés en 20 régions de taille variable (en codons) correspondant aux 20^{èmes} quantiles de la distribution des mutations chez les témoins. Cependant, certaines régions concentrent un grand nombre de témoins qui sont porteurs d'une mutation sur un seul et même codon (par exemple, pour le gène BRCA1, 1400 personne-années sont porteuses d'une mutation entre les codons 1 et 27 tandis que seulement 115 personne-années portent une mutation entre les codons 1163 et 1202). Cela explique pourquoi, dans BRCA1, le découpage en quantiles de 20 aboutit à des régions déséquilibrées en termes d'effectif (cf. Tableau 3 et Tableau 4). Les HRs correspondant à chacune des régions ont été estimés, puis les régions contiguës ayant des HRs similaires ont été regroupées de façon à déterminer des régions homogènes. La première région en 5' de chacun des deux gènes a servi de classe de référence. Une région associée à de faibles estimations ponctuelles du risque de cancer du sein est observé entre le 374^{ème} codon et le 1160^{ème} codon du gène *BRCA1* (cf. Tableau 3). En effet, ces estimations ponctuelles sont proches de 0,50 avec des p de signification pour la plupart inférieures à 0,20. Les zones en amont et en aval de cette région présentent des estimations ponctuelles plus élevées et ont été regroupées en deux régions homogènes, c'est-à-dire les régions 0-373 et 1161-1863.

Tableau 3 : Découpage en quantiles de 20 du gène *BRCA1*

Découpage en quantiles de 20 du gène <i>BRCA1</i>					
Localisation des mutations (codons)	Nb de personne- Nb de cas années		HR ^a	IC95% ^b	p-value
0-26	1400	17	1,00		
27-73	1254	5	0,35	0,11-1,14	0,08
74-156	466	5	1,43	0,50-4,10	0,51
157-373	1207	16	1,24	0,60-2,57	0,56
374-540	993	6	0,39	0,13-1,17	0,09
541-708	1136	11	0,74	0,29-1,90	0,53
709-891	1002	8	0,55	0,22-1,35	0,19
892-1047	1164	9	0,53	0,20-1,39	0,19
1048-1160	1072	9	0,50	0,19-1,32	0,16
1161-1162	2012	20	0,85	0,41-1,74	0,65
1163-1202	115	0	NA	NA	NA
1203-1256	1233	11	0,64	0,25-1,58	0,33
1257-1287	1427	14	0,74	0,32-1,75	0,50
1288-1394	1312	14	0,83	0,36-1,92	0,66
1395-1419	673	8	1,10	0,40-3,04	0,85
1420-1464	1231	13	0,74	0,30-1,81	0,51
1465-1709	1176	13	0,95	0,42-2,15	0,89
1710-1763	2763	24	0,68	0,33-1,41	0,30
1764-1863	421	6	1,18	0,33-4,20	0,79

a: HR= hazard ratio

b: IC95%= intervalle de confiance à 95%

Une région associée à de faibles estimations ponctuelles du risque de cancer du sein est observé entre le 957^{ème} codon et le 1827^{ème} codon du gène *BRCA2* (*cf.* Tableau 4). En effet, ces estimations ponctuelles sont toutes inférieurs à 1,00. La région comprise entre les codons 2546 et 2967 est associée a une importante augmentation du risque de cancer du sein. Les zones en amont et en aval de ces deux régions présentent des estimations ponctuelles plus élevées et ont été regroupées en trois régions homogènes, c'est-à-dire les régions 0-956, 1228-2545 et 2968-3418.

Les HRs moyens ont été estimés pour les régions homogènes ainsi définies, ainsi que des intervalles de confiance à 95%.

Tableau 4 : Découpage en quantiles de 20 du gène *BRCA2*

Localisation des mutations (codons)	Nb de personne-années	Nb de cas	HR ^a	IC95% ^b	p-value
0-96	630	5	1,00		
97-372	826	10	2,30	0,46-11,4	0,31
373-462	570	5	1,38	0,27-7,19	0,70
463-601	574	5	1,49	0,28-8,04	0,64
602-823	669	7	1,07	0,20-5,89	0,94
824-956	688	7	1,56	0,32-7,56	0,58
957-1199	543	3	0,67	0,11-3,95	0,66
1200-1428	598	4	0,73	0,13-4,18	0,72
1429-1641	593	1	0,14	0,01-1,54	0,11
1642-1827	547	3	0,58	0,09-3,60	0,56
1828-1888	522	5	1,99	0,36-10,9	0,43
1889-1952	519	4	1,11	0,21-5,77	0,90
1953-2010	963	11	2,01	0,51-7,87	0,32
2011-2131	666	8	2,17	0,52-9,06	0,29
2132-2175	650	4	0,47	0,08-2,68	0,39
2176-2395	867	9	1,29	0,28-5,88	0,74
2396-2545	455	4	1,10	0,23-5,37	0,91
2546-2967	1137	19	5,25	1,27-21,6	0,02
2968-3065	743	8	1,92	0,42-8,77	0,40
3066-3418	733	9	2,47	0,57-10,7	0,23

a: HR= hazard ratio

b: IC95%= intervalle de confiance à 95%

Pour estimer les p de signification en s'affranchissant des tests multiples et en séquence réalisés pour déterminer les zones homogènes, j'ai utilisé la méthode des permutations [194] (programme stata présenté en annexe VI). Un total de 10 000 échantillons de 990 sujets ont été simulés sous l'hypothèse nulle « aucune association entre le risque de cancer du sein et la localisation des mutations » de la façon suivante :

Pour chaque échantillon simulé, j'ai attribué à chaque femme une des régions précédemment définies comme étant homogènes, indépendamment de son statut vis-à-vis du cancer du sein. De façon à ce que l'échantillon simulé soit représentatif de l'échantillon observé, les femmes ont été distribuées « dans » chaque région en respectant le gène pour lequel elles étaient porteuses d'une mutation. Pour ce faire, j'ai attribué aléatoirement une valeur « x » comprise entre 1 et 100 tirée au sort à partir d'une distribution uniforme.

Notons,

R_i : la région i

i \in [1-3] pour *BRCA1*

i \in [1-5] pour *BRCA2*

P_i : le pourcentage de femmes dont la mutation se trouve dans la région R_i

$P \in [0-1]$

Ainsi, si x est compris entre 0 et $P_1 \times 100$, la femme se verra attribuer la région R_1 . De la même façon, si x est compris entre $P_{i-1} \times 100$ et $P_i \times 100$, alors elle se verra attribuer la région R_i .

Ce processus est répété 10 000 fois avec pour chaque échantillon une distribution uniforme différente de la variable « x ».

Les HR associés aux régions homogènes ont ensuite été calculés pour chacun des 10 000 échantillons.

Notons :

HR_{sim_i} : le HR correspondant à la région R_i dans un échantillon simulé.

HR_{obs_i} : le HR correspondant à la région R_i dans l'échantillon observé.

Sous l'hypothèse nulle « aucune association entre le risque de cancer du sein et la localisation des mutations dans les régions homogènes », et pour chaque région R_i , la distribution des $\ln(HR_{sim_i})$ correspond à une loi normale centrée sur 0 (cf. Figure 19). Ainsi, le p de signification est égal à la proportion d'échantillons simulés pour lesquels :

$\ln(HR_{sim_i}) \leq -\ln(HR_{obs_i})$ ou $\ln(HR_{sim_i}) \geq +\ln(HR_{obs_i})$.

$$p_i = \frac{\text{nombre}(\ln HR_{sim_i}) \leq -(\ln HR_{obs_i}) + \text{nombre}(\ln HR_{sim_i}) \geq +(\ln HR_{obs_i})}{10000}$$

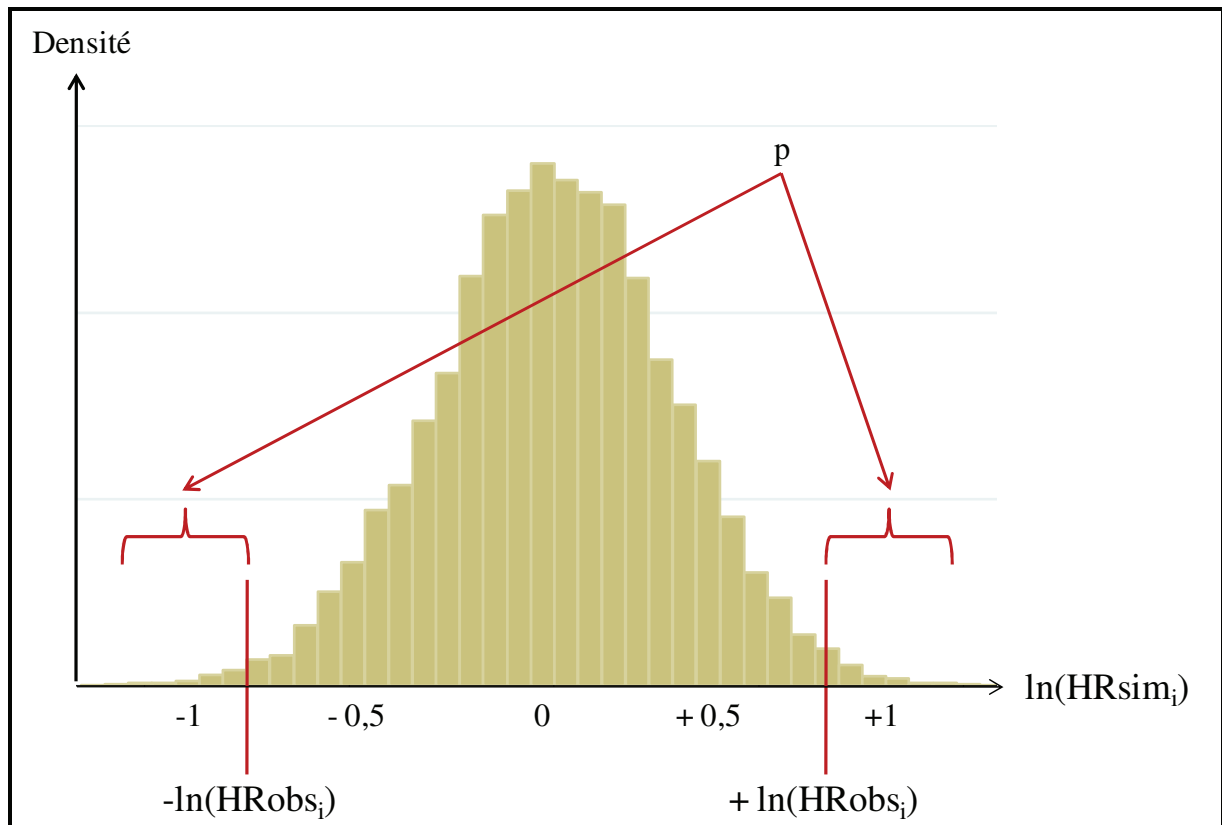


Figure 19 : Illustration de la distribution des 10 000 $\ln(HRsim_i)$

E. Stratégie d'analyse

J'ai tout d'abord étudié les variations du risque de cancer du sein associé aux facteurs décrits chapitre II/I/C sur l'ensemble des femmes de la cohorte « une femme par famille » de façon globale puis en fonction du gène muté.

Puis, j'ai étudié la variation du risque de cancer du sein associé au type et à la localisation des mutations. J'ai ainsi pu déterminer des régions homogènes en termes de risque.

Enfin, j'ai étudié les variations du risque de cancer du sein associé à ces facteurs par régions homogènes décrites précédemment afin de déterminer d'éventuelles interactions entre les facteurs de risque gynéco-obstétrique ou de « style de vie » et la localisation des mutations dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2*. Les interactions ont été testées par l'introduction dans le modèle de Cox d'un terme d'interaction sur une échelle multiplicative entre les deux variables d'intérêts et le nombre de degrés de liberté est compris entre 1 et 4 suivant le nombre de catégories de la variable étudiée et le gène.

Chapitre III : Résultats

Les caractéristiques de la cohorte « entière » et de l'échantillon « une femme par famille » sont résumées dans le Tableau 5.

La cohorte GENEPSO compte un plus grand nombre de porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* que du gène *BRCA2*. En effet, parmi les 1337 femmes de la cohorte « entière », 863 sont porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* (65%), et 474 du gène *BRCA2* (35%). Dans la cohorte « entière », l'âge moyen à l'inclusion est de 44 ans (de 18 à 99 ans). Les cas ont un âge plus élevé à l'inclusion que les témoins (cas : 49 ans, Intervalle de confiance (IC)=48-50, témoins : 41 ans, IC=40-42). L'âge moyen à la censure varie peu en fonction du statut vis-à-vis du cancer, puisqu'il est de 41 ans (de 23 à 77 ans) chez les cas et de 40 ans (de 18 à 99 ans) pour les témoins. Par ailleurs, le délai moyen entre la date du diagnostic de cancer du sein et la date d'inclusion est de 8 ans (de 0 à 39 ans). Ces caractéristiques ne sont pas modifiées par le tirage au sort et sont comparables à celles de l'échantillon « une femme par famille ». En effet, la distribution des variables étudiées dans l'échantillon « une femme par famille » est comparable à celle de la cohorte « entière » (Tableau 5 suite).

Tableau 5: Description de la cohorte GENEPSO

Caractéristiques	Cohorte « entière »						Cohorte « une femme par famille »					
	Témoins (n=838)		Cas (n=499)		Cas et Témoins (n=1 337)		Témoins (n=611)		Cas (n=379)		Cas et Témoins (n=990)	
	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%
Gène muté												
<i>BRCA1</i>	531	63	332	67	863	65	395	65	240	63	635	64
<i>BRCA2</i>	307	37	167	33	474	35	216	35	139	37	355	36
Age à l'interview (années)												
Moyenne	41,0		49,4		44,1		40,7		48,6		43,7	
Déviation Standard	0,4		0,5		0,3		0,5		0,5		0,4	
Intervalle de confiance	40,1-41,9		48,4-50,3		43,4-44,8		39,7-41,7		47,5-49,7		43,00-44,5	
Min et Max	18-99		27-87		18-99		18-99		27-83		18-99	
Age au diagnostic/à la censure (années)												
Moyenne	40,0		41,0		40,4		40,1		40,4		39,8	
Déviation standard	0,4		0,4		0,3		0,3		0,5		0,5	
Intervalle de confiance	39,2-40,8		40,2-41,7		39,8-41,0		39,4-40,7		39,6-41,3		38,9-40,7	
Min et Max	18-99		23-77		18-99							
<30	162	19	34	7	196	15	142	23	29	8	113	11
30-39	282	34	205	41	487	36	371	61	159	42	212	21
40-49	227	27	176	35	403	30	306	50	133	35	173	17
50-59	113	13	67	13	180	13	126	21	47	12	79	8
≥60	54	6	17	3	71	5	45	7	11	3	34	3
Délai entre l'interview et le diagnostic												
Moyenne			8,4						8,2			
Déviation Standard			7,0						6,6			
Intervalle de confiance			7,8-9,00						7,50-8,84			
Min et Max			0-39,3						0-34			
Année de naissance												
<1950	153	18	201	40	354	26	237	39	139	37	98	10
1950-1960	159	19	165	33	324	24	248	41	128	34	120	12
1960-1970	232	28	119	24	351	26	282	46	99	26	183	18
≥1970	294	35	14	3	308	23	223	36	13	3	210	21

Tableau 5 : Description de la cohorte GENEPSO (suite)

Caractéristiques	Cohorte « entière »						Cohorte « une femme par famille »					
	Témoins (n=838)		Cas (n=499)		Cas et Témoins (n=1 337)		Témoins (n=611)		Cas (n=379)		Cas et Témoins (n=990)	
	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%
Age aux premières règles												
Avant 12 ans	129	15	98	20	227	17	96	16	74	20	170	17
Entre 12 à 15 ans	592	71	317	64	909	68	435	71	239	63	674	68
Après 15 ans	110	13	84	17	194	15	77	13	66	17	143	14
Jamais	4	0	0	0	4	0	2	0	0	0	2	0
Inconnu	2	0	0	0	2	0	1	0	0	0	1	0
Grossesses menées à terme												
0	225	27	68	14	293	22	159	26	58	15	217	22
1	142	17	108	22	250	19	106	17	90	24	196	20
2	270	32	181	36	451	34	207	34	138	36	345	35
≥3	201	24	141	28	342	26	139	23	92	24	231	23
Inconnu	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0
Allaitement												
Jamais	252	30	188	38	440	33	178	29	131	35	309	31
≥1 mois	338	40	230	46	568	42	260	43	182	48	442	45
Inconnu	23	3	13	3	36	3	14	2	8	2	22	2
Nullipares	225	27	68	14	293	22	159	26	58	15	217	22
Interruptions de grossesse induites												
0	677	81	383	77	1 060	79	490	80	286	75	776	78
1	132	16	80	16	212	16	101	17	66	17	167	17
2	22	3	23	5	45	3	16	3	16	4	32	3
≥3	4	0	8	2	12	1	2	0	7	2	9	1
Inconnu	3	0	5	1	8	1	2	0	4	1	6	1
Interruptions de grossesse spontanées												
0	698	83	387	78	1 085	81	498	82	293	77	791	80
1	95	11	78	16	173	13	80	13	64	17	144	15
2	28	3	22	4	50	4	22	4	12	3	34	3
≥3	13	2	8	2	21	2	9	1	7	2	16	2
Inconnu	4	0	4	1	8	1	2	0	3	1	5	1

Tableau 5 : Description de la cohorte GENEPSO (suite)

Caractéristiques	Cohorte entière						Cohorte « une femme par famille »					
	Témoins (n=838)		Cas (n=499)		Cas et Témoins (n=1 337)		Témoins (n=611)		Cas (n=379)		Cas et Témoins (n=990)	
	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%
Contraceptifs oraux pendant plus de six mois												
Jamais	159	19	130	26	289	22	108	18	93	25	201	20
Oui	635	76	337	68	972	73	469	77	259	68	728	74
Inconnu	44	5	32	6	76	6	34	6	27	7	61	6
Statut ménopausique												
Pré-ménopause	664	79	404	81	1 068	80	483	79	312	82	795	80
Post-ménopause	154	18	86	17	240	18	111	18	60	16	171	17
Inconnu	20	2	9	2	29	2	17	3	7	2	24	2
Traitements hormonaux substitutifs												
Jamais	93	11	54	11	147	11	70	11	40	11	110	11
Oui	60	7	31	6	91	7	40	7	19	5	59	6
Pré-ménopause	662	79	404	81	1 066	80	481	79	312	82	793	80
Inconnu	23	3	10	2	33	2	20	3	8	2	28	3
Consommation de tabac												
Jamais	438	52	271	54	709	53	318	52	201	53	519	52
Oui	385	46	223	45	608	45	281	46	173	46	454	46
Inconnu	15	2	5	1	20	1	12	2	5	1	17	2
Consommation d'alcool												
Jamais	235	28	117	23	352	26	169	28	90	24	259	26
Oui	602	72	382	77	984	74	441	72	289	76	730	74
Inconnu	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0
Exposition thoracique aux rayons X												
Jamais	173	21	14	3	187	14	129	21	10	3	139	14
Oui	640	76	481	96	1 121	84	461	75	365	96	826	83
Inconnu	25	3	4	1	29	2	21	3	4	1	25	3
IMC												
<18,5	579	69	359	72	938	70	429	70	275	73	704	71
Entre 18,5 et 25	210	25	106	21	316	24	147	24	75	20	222	22
>25	46	5	33	7	79	6	32	5	29	8	61	6
Inconnu	3	0	1	0	4	0	3	0	0	0	3	0

I. Facteurs gynéco-obstétriques et de « style de vie »

Nous avons dans un premier temps étudié l'effet marginal des facteurs dits de « style de vie » et gynéco-obstétriques décrits dans la population générale comme associés ou potentiellement associés à une diminution ou une augmentation du risque de développer un cancer du sein.

A. Les facteurs exogènes

1. Les radiations ionisantes thoraciques

Les expositions ionisantes thoraciques considérées sont les radios pulmonaires, de la colonne vertébrale, des côtes, *etc.*

83% des femmes ont été exposées aux radiations au moins une fois au cours de leur vie. Seulement 14% n'ont jamais été exposées dont 2,8% des cas (*cf.* Tableau 6). Une augmentation du risque est retrouvée associée aux expositions aux rayons X, quelque soit le gène muté, l'âge et le nombre d'expositions. En effet, le risque de développer un cancer du sein augmente d'un facteur 4 quand une femme a été exposée au moins une fois dans sa vie (HR=4,29 [IC95%=2,09-8,81]). Le risque ne semble pas différent, que la première exposition ai eut lieu avant ou après l'âge de 20 ans (HR=4,16 [IC95%=2,03-8,56] et HR=6,45 [IC95%=2,86-14,6], respectivement). Le nombre d'expositions ne semble pas non plus faire varier cette augmentation du risque (une seule période de « 1 à 4 expositions » : HR=4,83 [IC95%=1,83-12,8] et deux périodes de « 1 à 4 expositions » : HR=6,22 [IC95%=2,94-13,1]).

Tableau 6 : Variation du risque de cancer associé aux expositions thoraciques aux rayons X en fonction du gène muté

	Cohorte « entière » (39 666 Personne-années)					<i>BRCA1</i> (25 045 Personne-années)					<i>BRCA2</i> (14 621 Personne-années)				
	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Exposition thoracique aux rayons X ^d															
Jamais exposée	4 736	10	1,00			3 319	7	1,00		<10 ⁻³	1 417	3	1,00		
≥1 exposition	34 035	365	4,29	2,09-8,81	<10 ⁻³	21 176	230	4,12	1,82-9,35	<10 ⁻³	12 859	135	5,43	1,36-21,7	0,02
Age à la première exposition ^d															
Jamais exposée	4 736	10	1,00			3 319	7	1,00			1 417	3	1,00		
Avant 20 ans	31 310	331	4,16	2,03-8,56	<10 ⁻³	19 777	212	4,02	1,77-9,15	<10 ⁻³	11 533	119	4,96	1,27-19,4	0,02
Après 20 ans	2725	34	6,45	2,86-14,6	<10 ⁻³	1 399	18	6,41	2,46-16,8	<10 ⁻³	147	16	7,66	1,82-32,2	0,01
Nombre d'exposition ^d															
Jamais exposée	4 736	10	1,00			3 319	7	1,00			1 417	3	1,00		
Une seule période avec 1-4 exp	1 532	12	4,83	1,83-12,8	<10 ⁻³	1 007	10	5,38	1,82-15,9	<10 ⁻³	525	2	2,28	0,34-15,5	ns
Deux périodes avec 1-4 exp	20 624	276	6,22	2,94-13,1	<10 ⁻³	12 527	165	5,56	2,38-13,0	<10 ⁻³	8 097	111	8,94	2,28-35,0	<10 ⁻³
Au moins une période avec + 5exp	9 201	62	2,80	1,30-6,05	0,01	5 851	47	3,10	1,30-7,41	0,01	3 350	15	1,79	0,42-7,63	ns

a: HR=hazard ratio

b: IC95%= intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: variables d'ajustement : le nombre de GMT, le statut ménopausique et le gène mute

2. La consommation de tabac

La consommation de tabac et d'alcool sont souvent étroitement liées, c'est-à-dire que dans la population générale ces deux facteurs sont positivement corrélés. Dans la cohorte GENEPSO, nous avons observé que ces deux facteurs interagissaient de façon négative, et ce, uniquement chez les femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1*. En effet, les femmes ayant déjà consommé de l'alcool et fumant avaient un risque de développer un cancer du sein inférieur à celui des femmes fumant, mais n'ayant jamais consommé d'alcool (respectivement : $HR=0,97$ [IC95%=0,66-1,44] et $HR=2,09$ [IC95%=1,04-4,19] ; $p_{interaction}=0,058$) (cf. Tableau 7). Les analyses portant sur la consommation de tabac ont donc été stratifiées sur la consommation d'alcool de façon à éviter un biais de survie. En effet, comme le suggèrent plusieurs études, la consommation conjointe de tabac et d'alcool pourrait être un facteur de mauvais pronostic [249-254]. On peut supposer que les cancers du sein des femmes ayant consommé à la fois tabac et alcool ont un pronostic particulièrement mauvais. Compte tenu que le délai moyen entre le diagnostic et l'interview est de 8 ans, les cas ayant consommé tabac et alcool pourraient être sous représentés dans la cohorte GENEPSO. Si tel est le cas, l'estimation du risque de cancer du sein chez les femmes ayant consommé à la fois tabac et alcool est biaisé du fait d'une mauvaise survie de ces femmes et laisse croire à tort à un effet protecteur de la consommation combinée de tabac et d'alcool.

Les estimations du risque associé au tabac chez les consommatrices d'alcool étant possiblement biaisées, les résultats ne seront commentés que pour les femmes n'ayant jamais consommé d'alcool. Chez les non consommatrices d'alcool, les femmes fumant actuellement semblent avoir un risque de cancer du sein plus élevé que celles n'ayant jamais fumé ($HR=2,09$ [IC95%=1,04-4,19]). Le risque observé est maximum pour une consommation supérieure à 20 paquets-année ($HR=3,21$ [IC95%=1,24-8,31]). Bien qu'elle porte sur un seul cas, l'estimation du risque de cancer du sein chez les femmes ayant arrêté de fumer depuis plus de 10 ans suggère une diminution du risque comparé aux femmes n'ayant pas arrêté au jour de la censure ($HR=0,12$ [IC95%=0,02-0,77]).

Les résultats des analyses menées sur les porteuses d'une mutation des gènes *BRCA1* et *BRCA2* sont présentés Tableau 8 et Tableau 9. L'interaction entre la consommation d'alcool et la consommation de tabac n'étant pas significative pour *BRCA2*, les analyses ont été stratifiées sur la consommation d'alcool uniquement pour le gène *BRCA1*. Les résultats des analyses menées gène par gène sont extrêmement semblables à ceux décrits précédemment sur la cohorte « une femme par famille ».

3. La consommation d'alcool

Les analyses portant sur la consommation d'alcool tous types confondus ont été stratifiées sur la consommation de tabac dichotomisée en « jamais » / « fume ou a fumé », pour la raison évoquée précédemment. On n'observe aucune variation du risque de cancer associée à la consommation d'alcool (au moins une fois au cours de la vie *versus* jamais : HR=1,10 [IC95%=0,76-1,61]) (cf. Tableau 7). Le questionnaire ne permettant pas de connaître la consommation des cas précédant leur cancer, la quantité d'alcool consommée par semaine (en nombre de verres) n'a pu être étudiée que pour la consommation estimée vers l'âge de 20 ans. De l'étude de la quantité d'alcool consommée ne se dégage aucune tendance, même si pour une consommation de plus de 10 verres par semaine, on observe une augmentation non significative de l'estimation du risque de cancer (consommation de plus de 10 verres d'alcool par semaine *versus* aucun verre d'alcool : HR=1,26 [IC95%=0,53-2,96]).

Les résultats des analyses menées en fonction du gène muté sont présentés dans les Tableau 8 et Tableau 9. Les estimations ponctuelles du risque suggèrent une association positive entre la consommation d'alcool et le cancer du sein mais uniquement chez les porteuses d'une mutation du gène *BRCA2* (au moins une fois au cours de la vie quelque soit la quantité et le type d'alcool *versus* jamais : HR=1,21 [IC95%=0,68-2,15]). Cette augmentation est maximale et est proche de la significativité (p=0,07) pour les femmes ayant consommé plus de 5 verres d'alcool par semaine vers l'âge de 20 ans (≥ 5 verres d'alcool par semaine *versus* 0 verre : HR=1,78 [IC95%=0,96-3,27]).

Tableau 7 : Variation du risque de cancer du sein associé à la consommation de tabac et d'alcool

	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
	Non consommatrices d'alcool					Consommatrices d'alcool				
Consommation de tabac ^d										
Jamais	8 804	62	1,00			21 002	139	1,00		
Actuellement	1 055	18	2,09	1,04-4,19	0.04	5 715	85	0,97	0,66-	ns
Passée	343	9	0,74	0,31-1,79	ns	1 978	61	1,21	0,83-	ns
Nombre de paquets-année ^d										
0-5	9 256	64	1,00			23 581	158	1,00		
6-20	863	17	1,03	0,52-2,05	ns	4 363	87	1,16	0,83-	ns
>21	75	8	3,21	1,24-8,31	0.02	729	40	1,13	0,68-	ns
Nombre d'années depuis l'arrêt ^d										
0	1 055	18	1,00			5 715	85	1,00		
≤10 ans	238	8	0,70	0,23-2,14	ns	1 269	33	1,35	0,80-	ns
>10 ans	105	1	0,12	0,02-0,77	0.03	709	28	1,15	0,67-	ns
	Non fumeuses					Fumeuses				
Consommation d'alcool ^d										
Jamais	8 804	62	1,00			1 398	27	1,00		
Actuellement	21 002	139	1,10	0,76-1,61	ns	7 693	146	0,89	0,53-	ns
Consommation d'alcool vers 20 ans (verres par semaine) ^d										
Jamais	18 716	137	1,00			4 399	93	1,00		
1-5	5 275	29	0,82	0,50-1,34	ns	1 866	29	0,74	0,44-	ns
6-10	4 188	24	1,02	0,56-1,87	ns	1 868	36	1,18	0,72-	ns
>10	1 244	9	1,26	0,53-2,96	ns	681	12	0,89	0,40-	ns
Consommation d'alcool vers 20 ans (verres par semaine) ^d										
Jamais	18 716	137	1,00			4 399	93	1,00		
1-5	5 275	29	0,82	0,50-1,34	ns	1 866	29	0,74	0,44-	ns
>5	5 432	33	1,09	0,65-1,83	ns	2 549	48	1,08	0,44-	ns

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur le nombre de GMT, le statut ménopausique, le gène muté et le nombre d'années d'interruption de la consommation de tabac

Tableau 8 : Variation du risque de cancer du sein associé à la consommation de tabac et d'alcool chez les porteuses d'une mutation du gène *BRCA1*

	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value		Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
	Non consommatrices d'alcool						Consommatrices d'alcool				
Consommation de tabac ^d											
Jamais	5 174	38	1,00				13 654	92	1,00		
Actuellement	715	13	2,09	0,94-4,65	0,07		3 571	48	0,87	0,52-1,43	ns
Passée	245	5	0,56	0,19-1,62	ns		1 206	41	1,25	0,81-1,93	ns
Nombre de paquets-année ^d											
0 - 5	5 493	40	1,00				15 219	103	1,00		
6 - 20	597	11	0,84	0,38-1,87	ns		2 771	60	1,23	0,83-1,82	ns
>21	44	5	3,29	1,09-9,95	0,04		419	18	0,87	0,45-1,68	ns
Nombre d'années écoulées depuis l'arrêt ^d											
N'ont pas arrêté	715	13	1,00				3 571	48	1,00		
≤10 ans	170	4	0,44	0,10-1,89	ns		798	25	1,64	0,87-3,10	ns
>10 ans	75	1	0,13	0,02-0,80	0,03		408	16	1,26	0,64-2,46	ns
	Non fumeuses						Fumeuses				
Consommation d'alcool ^d											
Jamais	5 136	38	1,00				960	18	1,00		
Actuellement	13 562	92	1,02	0,65-1,60	ns		4 777	89	0,90	0,49-1,68	ns
Consommation d'alcool vers 20 ans (verres par semaine) ^d											
Jamais	11 560	86	1,00				2 969	63	1,00		
1-5	3 364	21	0,79	0,43-1,46	ns		1 045	16	0,70	0,35-1,38	ns
6-10	2 677	16	0,89	0,44-1,80	ns		1 051	19	1,10	0,59-2,03	ns
>10	866	6	1,16	0,42-3,19	ns		471	7	0,78	0,31-1,96	ns
Consommation d'alcool vers 20 ans (verres par semaine) ^d											
Jamais	11 646	86	1,00				2 969	63	1,00		
1-5	3 385	21	0,79	0,43-1,46	ns		1 045	16	0,70	0,35-1,38	ns
>5	3 565	22	0,98	0,53-1,79	ns		1 522	26	0,98	0,57-1,70	ns

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur le nombre de GMT, le statut ménopausique et le nombre d'années d'interruption de la consommation de tabac

Tableau 9 : Variation du risque de cancer du sein associé à la consommation de tabac et d'alcool chez les porteuses d'une mutation du gène *BRCA2*

	Nb de personne -années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Consommation de tabac ^d					
Jamais	10 978	71	1,00		
Actuellement	2 484	42	1,39	0,73-2,63	ns
Passée	870	24	1,18	0,60-2,33	ns
Nombre de paquets-année ^d					
0 - 5	12 125	79	1,00		
6 - 20	1 858	33	1,07	0,58-1,98	ns
>21	341	25	2,25	1,05-4,82	0,04
Nombre d'années écoulées depuis l'arrêt ^d					
En cours	2 484	42	1,00		
≤10 ans	539	12	0,84	0,37-1,90	ns
>10 ans	331	12	0,71	0,30-1,70	ns
Consommation d'alcool ^e					
Jamais	4 068	33	1,00		
Actuellement	10 553	106	1,21	0,68-2,15	ns
Consommation d'alcool vers 20 ans (verres par semaine) ^d					
Jamais	8 591	81	1,00		
1-5	2 877	23	0,87	0,47-1,60	ns
6-10	2 344	25	1,85	0,89-3,86	ns
>10	582	8	1,64	0,66-4,02	ns
Consommation d'alcool vers 20 ans (verres par semaine) ^d					
Jamais	8 591	81	1,00		
1-5	2 877	23	0,88	0,48-1,62	0,69
>5	2 926	33	1,78	0,97-3,27	0,07

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur le nombre de GMT, le statut ménopausique, la consommation d'alcool et le nombre d'années d'interruption de la consommation de tabac

e: ajusté sur le nombre de GMT, le statut ménopausique, la consommation de tabac et le nombre d'années d'interruption de la consommation de tabac

B. L'indice de masse corporelle

Comparativement aux femmes ayant un indice de masse corporelle (IMC) « normal » (c'est-à-dire compris entre 18,5 et 25), les femmes en « surpoids » ($IMC > 25$) ont un risque de cancer du sein diminué ($HR=0,61$ [$IC95\%=0,45-0,84$]) (cf. Tableau 10), et celles en « sous-poids » ($IMC < 18,5$) un risque augmenté ($HR=2,09$ [$IC95\%=1,31-3,35$]). Lorsque cette analyse est conduite gène par gène, les résultats montrent une même tendance. En population générale, la majorité des études montre que le risque de cancer du sein associé à l'IMC varie en fonction du statut ménopausique (exemple : [66]). L'analyse du risque de cancer associé à l'IMC a donc été faite en stratifiant sur le statut vis-à-vis de la ménopause (non ménopausée *versus* ménopausée). Les résultats de cette analyse montrent une tendance similaire à celle observée précédemment. En effet, on observe une diminution du HR chez les femmes en surpoids qu'elles soient ménopausées ($HR=0,55$ [$IC95\%=0,38-0,79$]) ou non ($HR=0,87$ [$IC95\%=0,46-1,64$]) et une augmentation du HR chez les femmes en sous-poids qu'elles soient ménopausées ($HR=2,40$ [$IC95\%=1,47-3,93$]), ou non ($HR=1,60$ [$IC95\%=0,54-4,75$]). Cependant, seuls les HRs estimés dans la strate des femmes non ménopausées sont significatifs, mais notons que 80% des femmes de la cohorte GENEPSO ne sont pas ménopausées. Chez les femmes non ménopausées, le surpoids est associé à une augmentation du HR et le sous-poids à une diminution du HR quelque soit le gène muté (chez les femmes en surpoids par exemple, $HR=0,56$ [$IC95\%=0,37-0,85$] pour *BRCA1* et $HR=0,48$ [$IC95\%=0,24-0,97$] pour *BRCA2*).

Tableau 10 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'indice de masse corporelle en fonction du gène muté

Cohorte « entière » (39 666 Personne-années)						BRCA1 (25 045 Personne-années)					BRCA2 (14 621 Personne-années)				
	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
IMC ^d															
18,5-25	27 511	275	1,00			17 054	172	1,00			10 457	103	1,00		
>25	9 806	75	0,61	0,45-0,84	<10 ⁻³	6 541	54	0,65	0,45-0,93	0,02	3 265	21	0,55	0,30-1,01	0,05
<18,5	2 226	29	2,09	1,31-3,35	<10 ⁻³	1 327	14	1,66	0,88-3,13	ns	899	15	4,17	1,85-9,38	<10 ⁻³
Chez les femmes non ménopausées ^e															
18,5-25	26 130	233	1,00			16 267	146	1,00			9 863	87	1,00		
>25	9 021	52	0,55	0,38-0,79	<10 ⁻³	6 118	39	0,56	0,37-0,85	0,01	2 903	13	0,48	0,24-0,97	0,04
<18,5	2 099	27	2,40	1,47-3,93	<10 ⁻³	1 276	13	1,82	0,96-3,45	0,07	823	14	5,46	2,49-12,0	<10 ⁻³
Chez les femmes ménopausées ^e															
18,5-25	743	35	1,00			364	20	1,00			379	15	1,00		
>25	577	23	0,87	0,46-1,64	ns	361	15	1,05	0,49-2,24	ns	216	8	0,76	0,25-2,32	ns
<18,5	36	2	1,60	0,54-4,75	ns	11	1	1,13	0,17-7,42	ns	25	1	1,88	0,53-6,64	ns

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur le nombre de GMT, le statut ménopausique, et le gène muté

e: ajusté sur le nombre de GMT et le gène muté

C. Les facteurs gynéco-obstétriques

1. L'âge aux premières règles et la durée des cycles

L'analyse de l'âge aux premières règles menée sur la cohorte « une femme par famille » montre une diminution significative du risque de cancer du sein pour un âge « tardif » aux premières règles (*cf.* Tableau 11). En effet, comparativement aux femmes ayant eu leurs premières règles avant l'âge de 12 ans, celles ayant été réglées après 12 ans ont un risque diminué d'environ 30% (HR=0,69 [IC95%=0,49-0,97]). Cette diminution du risque a une amplitude comparable ($\approx 40\%$) pour les femmes porteuses d'une mutation dans le gène *BRCA1* (HR=0,62 [IC95%=0,42-0,92]), contrairement aux femmes porteuses d'une mutation dans le gène *BRCA2* où aucune association n'est mise en évidence (HR=1,13 [IC95%=0,57-2,23]).

L'analyse de la durée des cycles menée sur la cohorte « une femme par famille » montre que des cycles longs ou courts par rapport à la durée moyenne (entre 24 et 31 jours) sont associés à une augmentation du risque de cancer. En effet, pour les femmes ayant des cycles courts, c'est-à-dire inférieurs à 24 jours, une augmentation significative du risque d'environ 50% est observée (HR=1,48 [IC95%=1,01-2,19]). Bien que non significative, l'estimation ponctuelle du risque se trouve également augmentée chez les femmes ayant des cycles longs (HR=1,65 [IC95%=0,95-2,86]).

De même que pour l'âge aux premières règles, l'augmentation du risque associée à des cycles courts n'est mise en évidence que pour les femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* (HR=1,73 [IC95%=1,12-2,68]) et non pour les femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA2* (HR=0,93 [IC95%=0,40-2,18]). En revanche, les cycles longs sont associés à une estimation ponctuelle du risque augmentée quelque soit le gène muté (HR=1,65 [IC95%=0,84-3,24] pour *BRCA1* et HR=1,69 [IC95%=0,63-4,56] pour *BRCA1*).

Tableau 11: Variation du risque de cancer du sein associé à l'âge aux premières règles et à la durée des cycles en fonction du gène muté

	Cohorte « entière » (39 666 Personne-années)					BRCA1 (25 045 Personne-années)					BRCA2 (14 621 Personne-années)				
	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Age aux premières règles ^d															
<12 ans	6 522	74	1,00			4 253	54	1,00			2 269	20	1,00		
entre 12 et 14 ans	27 153	239	0,66	0,46-0,93	0,02	17 003	145	0,60	0,40-0,89	0,01	10 150	94	1,04	0,52-2,09	ns
>15 ans	5 887	66	0,84	0,53-1,34	ns	3 685	41	0,74	0,43-1,26	ns	2 202	25	1,68	0,71-3,95	ns
jamais	76	0				76	0				0	0			
Age aux premières règles ^d															
<12 ans	6 522	74	1,00			4 253	54	1,00			2 269	20	1,00		
>12 ans	33 040	305	0,69	0,49-0,97	0,03	20 688	186	0,62	0,42-0,92	0,02	12 352	119	1,13	0,57-2,23	ns
jamais	76	0				76	0				0	0			
Durée des cycles ^d															
24-31 jours	27 076	241	1,00			16 862	148	1,00			10 214	93	1,00		
20-24 jours	4 009	46	1,48	1,01-2,19	0,05	2 429	31	1,73	1,12-2,68	0,01	1 580	15	0,93	0,40-2,18	ns
>31 jours	1 898	21	1,65	0,95-2,86	0,08	1 190	13	1,65	0,84-3,24	0,15	708	8	1,69	0,63-4,56	ns

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur le nombre de GMT, le statut ménopausique, la contraception et le gène muté

2. Les traitements contraceptifs

Sur l'ensemble des femmes de la cohorte « une femme par famille » et quelque soit le gène muté et bien qu'aucun test d'hétérogénéité ne soit significatif, les estimations ponctuelles du risque de cancer du sein suggèrent une diminution du risque associée à une utilisation en cours de contraceptifs oraux (en cours d'utilisation *versus* non utilisatrices : $HR=0,77$ [$IC95\%=0,51-1,16$]) et une augmentation du risque chez les femmes ayant jadis utilisé ce type de traitement (utilisation « passée » *versus* non utilisatrice : $HR=1,21$ [$IC95\%=0,86-1,71$]) (cf. Tableau 12). On ne met pas en évidence de tendance en fonction de la durée d'utilisation (moins de 5 ans *versus* non utilisatrices : $HR=1,21$ [$IC95\%=0,80-1,82$] et plus de 5 ans *versus* non utilisatrices : $HR=1,03$ [$IC95\%=0,72-1,47$]). En revanche, l'analyse du nombre d'années écoulées depuis l'arrêt de la contraception semble confirmer l'augmentation du risque associée à une utilisation « passée » précédemment observée. On observe une augmentation du risque quelque soit le nombre d'années écoulées depuis l'arrêt de la contraception. Cependant, ce risque n'est significatif que lorsque l'arrêt de la contraception est récent, c'est-à-dire entre 2 et 5 ans (entre 2 et 5 ans *versus* en cours d'utilisation ou arrêt <1 : $HR=1,87$ [$IC95\%=1,27-2,75$]). Chez les femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1*, les résultats suggèrent que l'augmentation du risque associée à l'arrêt de la contraception est transitoire. En effet, aucune augmentation du risque n'est observée pour un arrêt de la contraception de plus de 11 ans (arrêt >11 ans *versus* en cours d'utilisation ou arrêt <1 an : $HR=1,06$ [$IC95\%=0,63-1,79$]). Bien que non significative, on note une augmentation du risque associée à une première utilisation de contraceptif à un âge précoce, c'est-à-dire avant 20 ans (avant 20 ans *versus* non utilisatrices : $HR=1,27$ [$IC95\%=0,84-1,93$]) sauf pour les porteuses d'une mutation du gène *BRCA2* pour lesquelles les estimations ponctuelles du risque sont augmentées quelque soit l'âge à la première utilisation (avant 20 ans : $HR=1,43$ [$IC95\%=0,69-2,96$] ; entre 20 et 25 ans : $HR=1,44$ [$IC95\%=0,63-3,29$] ; après 25 ans : $HR=1,48$ [$IC95\%=0,65-3,33$]).

Tableau 12 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'utilisation de traitements contraceptifs en fonction du gène muté

	Cohorte « entière » (39 666 Personne-années)					<i>BRCA1</i> (25 045 Personne-années)					<i>BRCA2</i> (14 621 Personne-années)				
	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Utilisation de traitements contraceptifs ^d															
Jamais	23 972	93	1,00			15 260	59	1,00			8 712	34	1,00		
Actuellement	8 088	65	0,77	0,51-1,16	ns	5 353	50	0,80	0,50-1,28	ns	2 735	15	0,61	0,27-1,39	ns
Passée	5 775	194	1,21	0,86-1,71	ns	3 415	118	1,08	0,72-1,62	ns	2 360	76	1,71	0,90-3,23	ns
Durée cumulée d'utilisation de traitements contraceptifs ^d															
Jamais	23 972	93	1,00			15 260	59	1,00			8 712	34	1,00		
<5ans	6 333	78	1,21	0,80-1,82	ns	3 827	47	1,19	0,74-1,92	ns	2 506	31	1,37	0,64-2,91	ns
>5 ans	7 464	180	1,03	0,72-1,47	ns	4 894	120	0,91	0,60-1,37	ns	2 570	60	1,51	0,77-2,95	ns
Temps depuis la dernière utilisation de traitements contraceptifs ^d															
Arrêt depuis <1an	8 088	65	1,00			5 353	50	1,00			2 735	15	1,00		
Arrêt depuis 2 à 5 ans	2 401	66	1,87	1,27-2,75	<10 ⁻³	1 476	44	1,65	1,05-2,60	0,03	925	22	3,40	1,65-7,00	ns
Arrêt depuis 6 à 10 ans	1 473	45	1,53	0,99-2,37	0,06	865	34	1,46	0,88-2,40	ns	608	11	1,60	0,69-3,74	ns
Arrêt depuis plus de 11 ans	1 897	83	1,41	0,92-2,17	ns	1070	40	1,06	0,63-1,79	ns	827	43	3,07	1,46-6,45	<10 ⁻³
Age à la première utilisation ^d															
Jamais	23 972	93	1,00			15 260	59	1,00			8 712	34	1,00		
Avant 20 ans	8 931	149	1,27	0,84-1,93	ns	5 656	100	1,23	0,74-2,02	ns	3 275	49	1,43	0,69-2,96	ns
Entre 20 et 25 ans	3 306	68	1,00	0,65-1,55	ns	2 150	42	0,87	0,52-1,46	ns	1 156	26	1,44	0,63-3,29	ns
Après 25 ans	1 627	42	1,01	0,63-1,62	ns	962	26	0,95	0,54-1,66	ns	665	16	1,48	0,65-3,33	ns

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur le nombre de GMT, le statut ménopausique et le gène muté

3. Les grossesses menées à terme et allaitement

Quelque soit le gène muté, les femmes ayant au moins une grossesse menée à terme (GMT) semblent avoir un risque diminué de cancer du sein comparées aux femmes nullipares (HR=0,77 [IC95%=0,53-1,13]) (cf. Tableau 13). L'augmentation du nombre d'enfants est associée à une diminution significative du risque de cancer du sein (p de tendance $<10^{-3}$). Cette diminution atteint 50% chez les femmes ayant mené à terme 3 grossesses et plus (HR=0,51 [IC95%=0,33-0,81]). Lorsque le nombre de grossesses menées à terme est étudié en fonction de l'âge atteint (moins de 40 ans *versus* plus de 40 ans), la diminution du risque associée à plus de trois grossesses n'est significative qu'après l'âge de 40 ans (avant 40 ans : ≥ 3 GMT *versus* 0 GMT : HR=0,82 [IC95%=0,48-1,41] et après 40 ans : ≥ 3 GMT *versus* 0 GMT : HR=0,35 [IC95%=0,17-0,70]).

Parmi les femmes ayant eu au moins une grossesse menée à terme et quelque soit le gène muté, un âge tardif à la première grossesse menée à terme confère une diminution du risque de cancer du sein (entre 25 et 30 ans *versus* avant 20 ans, HR=0,62 [IC95%=0,36-1,06] et après 30 ans *versus* avant 20 ans, HR=0,67 [IC95%=0,36-1,23]). Cette diminution n'est cependant pas significative.

Parmi les femmes ayant eu au moins une grossesse menée à terme, aucune variation du risque associée à l'allaitement n'est mise en évidence (allaitement *versus* pas d'allaitement : HR=1,02 [IC95%=0,76-1,36]) et ce, même pour des durées d'allaitement de 10 mois et plus (plus de 10 mois *versus* pas d'allaitement : HR=0,73 [IC95%=0,41-1,33]) (cf. Tableau 14).

Tableau 13 : Variation du risque de cancer du sein associé aux grossesses menées à terme (GMT) en fonction du gène muté

	Cohorte « entière » (39 666 Personne-années)					BRCA1 (25 045 Personne-années)					BRCA2 (14 621 Personne-années)				
	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
GMT ^d															
Nullipare	25 333	58	1,00			16 215	38	1,00			9 118	20	1,00		
Au moins une	14 333	321	0,77	0,53-1,13	ns	8 830	202	0,76	0,49-1,19	ns	5 503	119	0,78	0,39-1,55	ns
Nombre de GMT ^d															
0	25 333	58	1,00			16 215	38	1,00			9 118	20	1,00		
1	4 435	90	1,10	0,72-1,68	ns	2 777	58	1,04	0,63-1,72	ns	1 658	32	1,24	0,59-2,61	ns
2	5 640	138	0,79	0,52-1,20	ns	3 540	87	0,81	0,50-1,30	ns	2 100	51	0,73	0,35-1,55	ns
≥3	4 243	92	0,51	0,33-0,81	<10 ⁻³	2 498	56	0,52	0,31-0,89	0,02	1 745	36	0,49	0,22-1,10	0,08
Tendance			0,77	0,68-0,88	<10 ⁻³			0,78	0,67-0,91	<10 ⁻³			0,74	0,58-0,95	0,02
Nombre de GMT en fonction de l'âge atteint ^d															
0	25 333	58	1,00			16 215	38	1,00			9 118	20	1,00		
1-2 avant 40 ans	8 146	131	1,05	0,68-1,63	ns	5 169	88	1,04	0,62-1,77	ns	2 977	43	1,12	0,53-2,37	ns
≥3 avant 40 ans	2 303	40	0,82	0,48-1,41	ns	1 414	29	0,88	0,46-1,66	ns	889	11	0,64	0,23-1,75	ns
1-2 après 40 ans	1 929	97	0,70	0,36-1,36	ns	1 148	57	0,70	0,32-1,50	ns	781	40	0,61	0,19-1,99	ns
≥3 après 40 ans	1 940	52	0,35	0,17-0,70	<10 ⁻³	1 084	27	0,34	0,15-0,76	0,01	856	25	0,36	0,11-1,16	0,09
Age à la première GMT ^e															
<20 ans	1 866	39	1,00			1 217	27	1,00			649	12	1,00		
20-24 ans	7 158	152	0,91	0,55-1,50	ns	4 296	93	0,91	0,52-1,61	ns	2 862	59	0,87	0,32-2,34	ns
25-29 ans	3 994	85	0,62	0,36-1,06	0,08	2 492	53	0,57	0,31-1,06	0,08	1 502	32	0,63	0,22-1,80	ns
≥30 ans	1 315	45	0,67	0,36-1,23	ns	825	29	0,64	0,32-1,31	ns	490	16	0,65	0,20-2,13	ns
Nullipare	25 333	58	0,41	0,20-0,85	0,02	16 215	38	0,43	0,19-0,97	0,04	9 118	20	0,35	0,09-1,40	ns

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur, le statut ménopausique, la contraception et le gène muté

e: ajusté sur le nombre de GMT, le statut ménopausique, la contraception et le gène muté

Tableau 14 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'allaitement en fonction du gène muté

	Cohorte « entière » (39 666 Personne-années)					BRCA1 (25 045 Personne-années)					BRCA2 (14 621 Personne-années)				
	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Allaitement ^d															
Jamais	5 962	131	1,00			3 644	87	1,00			2 318	44	1,00		
Oui	7 875	182	1,02	0,76-1,36	ns	4 840	111	0,93	0,66-1,30	ns	3 035	71	1,45	0,84-2,51	ns
Nullipare	25 333	58	0,61	0,37-1,02	0,06	16 215	38	0,62	0,33-1,14	ns	9 118	20	0,53	0,21-1,30	ns
Durée cumulée ^d															
Jamais	5 962	131	1,00			3 644	87	1,00			2 318	44	1,00		
]0-5] mois	4 979	114	0,99	0,71-1,36	ns	3 040	68	0,87	0,59-1,28	ns	1 939	46	1,49	0,84-2,65	ns
] 5-10] mois	1 775	47	1,30	0,87-1,93	ns	1 144	30	1,18	0,74-1,86	ns	631	17	1,65	0,75-3,66	ns
≥10 mois	1 121	21	0,73	0,41-1,33	ns	656	13	0,74	0,35-1,54	ns	465	8	0,87	0,30-2,52	ns
Nullipare	25 333	58	0,61	0,36-1,03	0,07	16 215	38	0,60	0,32-1,12	ns	9 118	20	0,57	0,23-1,42	ns
Durée cumulée d'allaitement ^d															
Moins de 10 mois	6 754	161	1,00			4 184	98	1,00			2 570	63	1,00		
Plus de 10 mois	1 121	21	0,67	0,38-1,20	ns	656	13	0,76	0,37-1,56	ns	465	8	0,56	0,21-1,51	ns
Jamais	5 962	131	0,94	0,70-1,25	ns	3 644	87	1,05	0,74-1,47	ns	2 318	44	0,65	0,38-1,12	ns
Nullipare	25 333	58	0,60	0,35-1,03	0,06	16 215	38	0,67	0,35-1,25	ns	9 118	20	0,38	0,14-1,04	0,06

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur le nombre de GMT, le statut ménopausique, la contraception et le gène muté

4. Les grossesses interrompues

Quelque soit le gène muté, l'augmentation de l'estimation ponctuelle du risque suggère une association positive entre les interruptions de grossesse (tous types confondus, c'est-à-dire les fausses couches, les interruptions volontaires ou médicales) et le risque de cancer du sein (≥ 1 *versus* 0 : HR=1,28 [IC95%=0,98-1,67] ; $p=0,07$) (cf. Tableau 15). Cette augmentation est maximum et significative à partir de trois grossesses interrompues (≥ 3 *versus* 0 : HR=2,39 [IC95%=1,28-4,45]). Cette augmentation du risque semble être principalement due aux interruptions induites (≥ 3 induites *versus* 0 : HR=3,84 [IC95%=1,52-9,66] ; $p<10^{-3}$ et ≥ 3 spontanées *versus* 0 : HR=1,18 [IC95%=0,42-3,30]). De même, il semble que cette augmentation de risque soit associée à l'âge à la première interruption induite. En effet, une première interruption induite après l'âge de 20 ans est associée à un risque de cancer du sein diminué de 50% comparé aux femmes ayant eu une première interruption induite avant l'âge de 20 ans (après 20 ans *versus* avant 20 ans : HR=0,50 [IC95%=0,28-0,90]). Cet effet de l'âge à la première interruption n'est pas retrouvé pour les interruptions spontanées (après 20 ans *versus* avant 20 ans : HR=1,04 [IC95%=0,25-4,28]). Il semble également que le risque ne soit augmenté que chez les femmes ayant eu une interruption induite ou plus avant leur première grossesse menée à terme (avant *versus* 0 interruption induite : HR=1,77 [IC95%=1,19-2,63] et après *versus* 0 interruption induite : HR=0,97 [IC95%=0,65-1,45]). Cette association n'est pas retrouvée pour les interruptions spontanées.

Pour l'ensemble des variables étudiées, l'association entre le risque de cancer du sein et les interruptions de grossesse ne semble être significative que pour les interruptions induites. Cependant, lorsque l'on considère les interruptions spontanées ayant lieu uniquement au cours du premier trimestre de la grossesse, le risque associé à ces dernières est comparable à celui associé aux interruptions induites (1 induite ou plus *versus* 0 : HR=1,30 [IC95%=0,93-1,82] et 1 spontanée ou plus *versus* 0 : HR=1,35 [IC95%=0,95-1,93]) (cf. Tableau 16). On note une estimation ponctuelle du risque augmentée chez les femmes ayant subi au moins trois interruptions induites au cours du premier trimestre de grossesse (3 spontanées ou plus *versus* 0 : HR=1,86 [IC95%=0,71-4,86]). Lorsque l'on considère l'ensemble des interruptions tous types confondus intervenant au cours du premier trimestre, l'augmentation du risque associée à trois interruptions et plus est significative (3 interruptions ≤ 3 mois *versus* 0 : HR=3,41 [IC95%=1,92-6,05]). Comme pour les interruptions induites, les femmes ayant subi leur première interruption au cours des 3 premiers mois de grossesse après l'âge de 20 ans ont un risque significativement diminué comparé à celles ayant subi leur première interruption au

cours des 3 premiers mois avant l'âge de 20 ans (après 20 ans *versus* avant : HR=0,56 [IC95%=0,33-0,96]).

Lorsque ces analyses sont réalisées gène par gène, aucune différence notable n'est observée.

Tableau 15 : Variation du risque de cancer du sein associé aux grossesses interrompues en fonction du gène muté

	Cohorte « entière » (39 666 Personne-années)					<i>BRCA1</i> (25 045 Personne-années)					<i>BRCA2</i> (14 621 Personne-années)				
	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Grossesses interrompues ^d															
Aucune	33 455	219	1,00			21 291	135	1,00			12 164	84	1,00		
Au moins une	5 995	155	1,28	0,98-1,67	0,07	3 673	103	1,30	0,95-1,76	ns	2 322	52	1,07	0,64-1,78	ns
Nb de grossesses interrompues ^d															
0	33 455	219	1,00			21 291	135	1,00			12 164	84	1,00		
1	4 208	103	1,25	0,93-1,69	ns	2 544	70	1,27	0,89-1,82	ns	1 664	33	0,96	0,53-1,73	ns
2	1 320	32	1,07	0,69-1,66	ns	841	21	1,08	0,65-1,79	ns	479	11	1,01	0,46-2,24	ns
≥3	467	20	2,39	1,28-4,45	0,01	288	12	2,45	1,19-5,04	0,02	179	8	2,69	0,71-10,3	ns
Tendance			1,19	1,02-1,39	0,03			1,20	1,00-1,43	0,05			1,15	0,84-1,58	ns
Type d'interruption ^e															
Aucune grossesse interrompue	33 384	219	1,00			21 220	135	1,00			12 164	84	1,00		
Induites uniquement	2 909	71	1,29	0,93-1,81	ns	1 859	50	1,35	0,92-1,99	ns	1 050	21	1,02	0,53-1,96	ns
Spontanées	2 494	65	1,19	0,83-1,72	ns	1 407	41	1,14	0,73-1,78	ns	1 087	24	1,05	0,54-2,04	ns
Induites et spontanées	535	18	1,49	0,84-2,65	ns	350	11	1,51	0,79-2,91	ns	185	7	1,43	0,45-4,51	ns
Nb d'interruptions induites ^d															
0	35 968	286	1,00			22 666	177	1,00			13 302	109	1,00		
1	2 833	66	1,15	0,83-1,60		1 805	47	1,22	0,84-1,78	ns	1 028	19	0,87	0,45-1,68	ns
2	497	16	1,44	0,74-2,78		322	10	1,59	0,75-3,40	ns	175	6	1,47	0,44-4,88	ns
≥3	114	7	3,84	1,52-9,66	<10 ⁻³	82	4	3,31	1,13-9,71	0,03	32	3	7,85	1,74-35,5	0,01
Tendance			1,28	1,04-1,58	0,02			1,32	1,04-1,67	0,02			1,26	0,81-1,95	ns
Nb d'interruptions spontanées ^d															
0	36 419	293	1,00			23 121	186	1,00			13 298	107	1,00		
1	2 273	64	1,21	0,85-1,72	ns	1 321	41	1,20	0,79-1,82	ns	952	23	1,01	0,50-2,02	ns
2	508	12	0,98	0,48-1,99	ns	301	6	0,69	0,27-1,81	ns	207	6	1,54	0,64-3,67	ns
≥3	248	7	1,18	0,42-3,30	ns	135	5	1,40	0,44-4,53	ns	113	2	0,86	0,10-7,56	ns
Tendance			1,07	0,87-1,32	ns			1,04	0,81-1,35	ns			1,09	0,75-1,58	ns

Tableau 15 : Variation du risque de cancer du sein associé aux grossesses interrompues en fonction du gène muté (suite)

	Cohorte « entière » (39 666 Personne-années)					BRCA1 (25 045 Personne-années)					BRCA2 (14 621 Personne-années)				
	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Age à la première interruption induite ^c															
<20 ans	1 094	32	1,00			662	20	1,00			432	12	1,00		
≥20 ans	2 350	57	0,50	0,28-0,90	0,02	1 547	41	0,53	0,27-1,02	0,06	803	16	0,40	0,10-1,53	ns
Aucune	35 968	286	0,74	0,31-1,78	ns	22 666	177	0,70	0,27-1,84	ns	13 302	109	1,10	0,12-10,5	ns
Age à la première interruption spontanée ^c															
<20 ans	220	5	1,00			202	5	1,00			18	0			
≥ 20 ans	2 809	78	1,04	0,25-4,28	ns	1 555	47	0,87	0,20-3,72	ns	1 254	31			
Aucune	36 419	293	0,81	0,17-3,99	ns	23 121	186	0,69	0,12-3,92	ns	13 298	107			
Interruption induite relativement à la première GMT ^c															
Aucune	35 964	284	1,00			22 663	175	1,00			13 301	109	1,00		
Avant	1 835	49	1,77	1,19-2,63	0,01	1 223	33	1,77	1,13-2,71	0,01	612	16	1,88	0,86-4,12	ns
Après	1 613	42	0,97	0,65-1,45	ns	989	30	1,14	0,72-1,75	ns	624	12	0,55	0,26-1,18	ns
Interruption spontanée relativement à la première GMT ^c															
Aucune	36 414	291	1,00			23 118	186	1,00			13 296	105	1,00		
Avant la 1 ^{ère} GMT	1 138	29	1,07	0,65-1,77	ns	729	20	1,01	0,55-1,84	ns	409	9	0,89	0,36-2,16	ns
Après la 1 ^{ère} GMT	1 896	56	1,05	0,73-1,51	ns	1 031	32	1,02	0,65-1,60	ns	865	24	1,09	0,57-2,08	ns
Type et durée des grossesses interrompues ^c															
Aucune	33 384	219	1,00			21 220	135	1,00			12 164	84	1,00		
Induites uniquement	2 909	71	1,30	0,93-1,82	ns	1 859	50	1,36	0,92-2,00	ns	1 050	21	1,01	0,52-1,95	ns
Spontanée à ≤3 mois	2 492	74	1,35	0,95-1,93	0,09	1 461	45	1,27	0,84-1,94	ns	1 031	29	1,35	0,69-2,67	ns
Spontanée à >3 mois	436	8	0,93	0,41-2,12	ns	253	7	1,17	0,47-2,92	ns	183	1	0,14	0,02-1,24	0,08

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur le nombre de GMT, le statut ménopausique, la contraception et le gène muté

e: ajusté sur le nombre de GMT, le nombre de grossesses interrompues le statut ménopausique, la contraception et le gène muté

Tableau 16 : Variation du risque de cancer du sein associé aux grossesses interrompues au cours des trois premiers mois et au score TMAP en fonction du gène muté

	Cohorte « entière » (39 666 Personne-années)					BRCA1 (25 045 Personne-années)					BRCA2 (14 621 Personne-années)				
	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p- value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Nombre d'interruptions spontanées à ≤3 mois ^d															
Aucune	36 375	299	1,00			23 154	192	1,00			13 221	107	1,00		
1	2 441	69	1,15	0,81-1,63	ns	1 415	41	1,03	0,68-1,57	ns	1 026	28	1,34	0,70-2,55	ns
3 et +	152	6	1,86	0,71-4,86	ns	89	4	1,77	0,56-5,61	ns	63	2	3,66	0,69-19,4	ns
Nombre d'interruptions induites à ≤3 mois ^d															
Aucune	35 564	287	1,00			22 338	178	1,00			13 226	109	1,00		
1	2 799	74	1,30	0,94-1,79	ns	1 744	50	1,38	0,95-2,00	0,09	1 055	24	1,14	0,63-2,05	ns
3 et +	88	7	5,96	2,34-15,2	<10 ⁻³	56	4	5,90	1,90-18,3	<10 ⁻³	32	3	6,57	1,39-31,1	0,02
Nombre d'interruptions de tout type à ≤3 mois ^d															
Aucune	33 023	225	1,00			20 973	141	1,00			12 050	84	1,00		
1	4760	122	1,24	0,93-1,65	0,14	2 830	80	1,25	0,90-1,75	ns	1 930	42	1,07	0,63-1,81	ns
3 et +	315	18	3,41	1,92-6,05	<10 ⁻³	196	10	3,06	1,55-6,07	<10 ⁻³	119	8	8,14	2,93-22,6	<10 ⁻³
Age à la première interruption de tout type à ≤3 mois ^e															
Avant 20 ans	1 113	32	1,00			673	21	1,00			440	11	1,00		
Après 20	3 962	108	0,56	0,33-0,96	0,04	2 353	69	0,52	0,28-0,98	0,04	1 609	39	0,50	0,19-1,32	ns
Aucune	33 126	225	0,46	0,27-0,76	<10 ⁻³	21 076	141	0,43	0,23-0,79	0,01	12 050	84	0,45	0,18-1,13	ns
Interruption de tout type à ≤3 mois relativement à la 1 ^{ère} GMT ^e															
Aucune	33 023	225	1,00			20 973	141	1,00			12 050	84	1,00		
Avant la 1 ^{ère} GMT	2 119	56	1,44	0,97-2,15	0,07	1 331	39	1,49	0,93-2,40	0,10	788	17	1,20	0,57-2,51	ns
Après la 1 ^{ère} GMT	2 956	84	1,29	0,94-1,77	ns	1 695	51	1,26	0,87-1,83	ns	1 261	33	1,27	0,71-2,28	ns
Score TMAP (chez les femmes pares) ^f															
]0-0,35]	7 545	141	1,00			4 564	85	1,00			2 981	56	1,00		
]0,35-0,40]	3 416	88	1,05	0,75-1,48	ns	2 154	59	0,99	0,66-1,48	ns	1 262	29	1,09	0,60-1,98	ns
]0,40-0,45]	1 735	51	1,23	0,81-1,86	ns	1 034	30	1,12	0,67-1,87	ns	701	21	1,33	0,68-2,59	ns
]0,45-0,50]	589	17	1,53	0,80-2,93	ns	433	14	1,41	0,68-2,92	ns	156	3	1,70	0,37-7,71	ns
]0,50-1,00]	1 186	22	1,97	1,19-3,29	0,01	722	12	1,91	1,07-3,42	0,03	464	10	2,04	0,79-5,24	ns
Tendance			1,16	1,03-1,30	0,02			1,14	0,99-1,32	0,07			1,17	0,95-1,44	ns

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur le nombre de GMT, le statut ménopausique, la contraception et le gène muté

e: ajusté sur le nombre de GMT, le nombre de grossesses interrompues le statut ménopausique, la contraception et le gène muté

f: ajusté sur le statut ménopausique, la contraception et le gène muté

5. Le score « Mitotic Activity during Pregnancies » (TMAP)

Pour mieux comprendre la dualité des effets d'une grossesse menée à terme et celui d'une interruption de grossesse au cours des trois premiers mois, j'ai créé un score pour prendre en compte simultanément ces deux effets. Ce score, nommé TMAP pour Mitotic Activity during Pregnancies, est pour chaque femme le temps cumulé des 1^{ers} trimestres de l'ensemble des grossesses sur la somme des durées de toutes les grossesses.

Notons :

d_i = durée d'une grossesse i au cours du premier trimestre (en mois)

$d \in]0-3]$

D_i = durée totale de la grossesse i (en mois)

$D \in]0-9]$

n = le nombre de grossesses

$$TMAP = \frac{\sum_{i=1}^n d_i}{\sum_{i=1}^n D_i}$$

Par exemple, une femme ayant eu trois grossesses, une première grossesse menée à terme de 8,5 mois, une grossesse interrompue à 2,5 mois et enfin, une grossesse menée à terme de 9 mois aura à la censure un TMAP de 0,43 (cf. Figure 20).

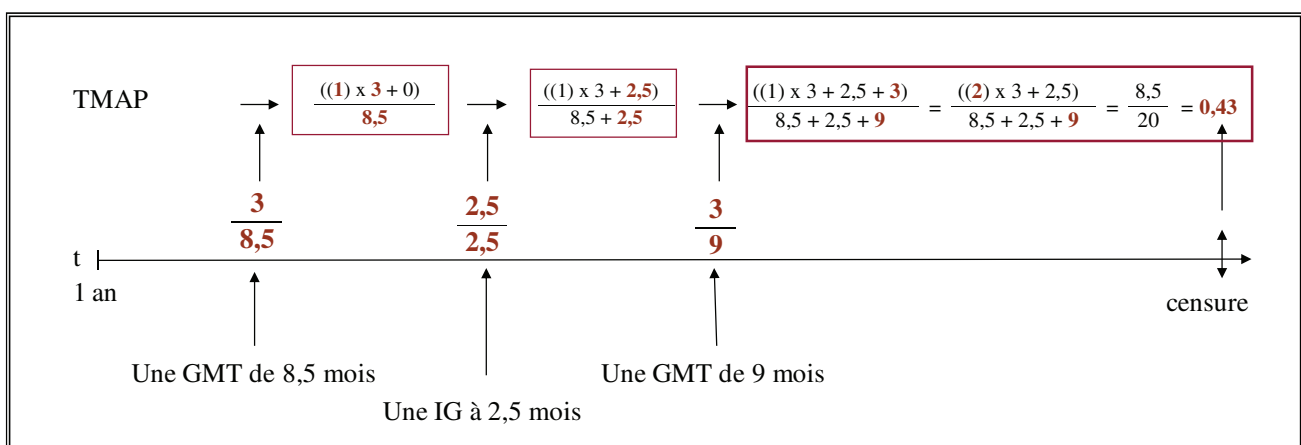


Figure 20 : Exemple illustrant le TMAP

Les valeurs du TMAP pour quelques cas concrets sont présentées dans le Tableau 17

Tableau 17: Exemple de valeurs du score TMAP

Nombre de grossesses		Interrompues d'une durée de 3 mois					
		0	1	2	3	4	5
Menées à terme d'une durée de 9 mois	0		1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
	1	0,33	0,50	0,60	0,67	0,71	0,75
	2	0,33	0,43	0,50	0,56	0,60	0,64
	3	0,33	0,40	0,45	0,50	0,54	0,57
	4	0,33	0,38	0,43	0,47	0,50	0,53
	5	0,33	0,38	0,41	0,44	0,47	0,50

Le score TMAP varie de 0,3 à 1 et a une valeur moyenne de 0,40 [IC95%=0,39-0,41] dans la cohorte « une femme par famille ».

On observe une association positive entre le score TMAP et le risque de cancer du sein (cf. Tableau 16). En effet, on observe une association linéaire significative entre le TMAP et le risque de cancer (HR=1,16 [IC95%=1,03-1,30]). Le risque est maximum pour les femmes ayant un score compris entre 0,5 et 1,00, c'est-à-dire les femmes ayant passé plus de 50% du temps cumulé de leurs grossesses en premier trimestre de grossesse. ([0,5-1,00] *versus*]0,30-0,35] : HR=1,97 [IC95%=1,19-3,29]).

6. La ménopause

La ménopause semble être associée à une augmentation du risque de cancer du sein (ménopause *versus* non-ménopause (HR=1,30 [IC95%=0,85-2,01]) (cf. Tableau 18). Cette augmentation n'est cependant significative que chez les femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* (ménopausées *versus* non-ménopausées : HR=1,63 [IC95%=1,01-2,64]). Bien que non significative, on observe une estimation du risque inférieure à 1 chez les femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA2* (ménopausées *versus* non-ménopausées : HR=0,54 [IC95%=0,21-1,40]). L'interaction entre le statut vis-à-vis de la ménopause et le gène muté n'est pas significative ($p_{\text{interaction}}=0,37$). L'augmentation du risque de cancer du sein associée à la ménopause est essentiellement due à l'effet des ménopauses naturelles (pour *BRCA1*, HR=2,14 [IC95%=1,16-3,93]). Les ménopauses artificielles semblent, quant à elles, ne pas augmenter le risque de cancer du sein (pour *BRCA1*, ménopausées artificiellement *versus* non-ménopausées : HR=0,99 [IC95%=0,44-2,26]). Il faut tout de même noter que la ménopause artificielle concerne seulement 229 personne-années (dont 173 pour *BRCA1*) dont 9 cas (6 pour *BRCA1*). Du fait de ces faibles effectifs, l'analyse du risque associé à l'âge à la ménopause a été faite uniquement chez les femmes dont la ménopause est naturelle. On observe une augmentation des estimations ponctuelles du risque quelque soit l'âge à la ménopause naturelle et en particulier pour les femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ménopausées après 50 ans (HR=4,84 [IC95%=1,63-14,4]).

Tableau 18 : Variation du risque de cancer du sein associé au statut ménopausique en fonction du gène muté

	Cohorte « entière » (39 666 Personne-années)					BRCA1 (25 045 Personne-années)					BRCA2 (14 621 Personne-années)				
	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Statut ménopausique ^d															
Non ménopausée	37 362	312	1,00			23 773	198	1,00			13 589	114	1,00		
Post-ménopause	1 367	60	1,30	0,85-2,01	ns	747	36	1,63	1,00-2,64	0,05	620	24	0,54	0,21-1,40	ns
Type de ménopause ^d															
Non ménopausée	37 362	312	1,00			23 773	198	1,00			13 589	114	1,00		
Naturelle	1 078	51	1,58	0,93-2,69	0,09	574	30	2,14	1,16-3,93	0,01	504	21	0,54	0,19-1,52	ns
Artificielle	289	9	0,88	0,42-1,84	ns	173	6	0,99	0,44-2,26	ns	116	3	0,54	0,11-2,51	ns
Age à la ménopause naturelle ^d															
Non ménopausée	37 362	312	1,00			23 773	198	1,00			13 589	114	1,00		
Avant 50 ans	470	21	1,40	0,78-2,50	ns	230	13	1,79	0,91-3,54	0,09	240	8	0,49	0,16-1,50	ns
Après 50 ans	608	30	2,46	1,03-5,86	0,04	344	17	4,84	1,63-14,4	<10 ⁻³	264	13	0,67	0,16-2,72	ns
Nombre d'années depuis la ménopause naturelle ^d															
Non ménopausée	37 362	312	1,00			23 773	198	1,00			13 589	114	1,00		
<5 ans	433	26	1,61	0,90-2,86	ns	252	18	2,13	1,10-4,13	0,03	181	8	0,51	0,16-1,58	ns
5-9 ans	282	9	1,30	0,56-3,05	ns	149	5	1,97	0,76-5,11	ns	133	4	0,43	0,10-1,92	ns
>9 ans	363	16	2,06	0,70-6,09	ns	173	7	2,80	0,46-17,2	ns	190	9	0,76	0,20-2,84	ns

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur le nombre de GMT, traitements hormonaux substitutifs, l'indice de masse corporelle et le gène muté

7. Traitements hormonaux substitutifs

Les estimations ponctuelles du risque de cancer du sein associé aux traitements hormonaux substitutifs suggèrent une augmentation du risque (*cf.* Tableau 19), que cette consommation soit actuelle (« actuelle » *versus* non-utilisatrices : HR=1,20 [IC95%=0,61-2,34]) ou passée (« passée » *versus* non-utilisatrices : HR=1,51 [IC95%=0,34-6,73]). L'augmentation du risque de cancer associée aux traitements hormonaux substitutifs n'est significative que pour une consommation de plus de 5 ans (plus de 5 ans *versus* non-utilisatrices : HR=2,29 [IC95%=1,07-4,89]). Le nombre de femmes ne prenant plus de traitements hormonaux substitutifs étant trop petit, l'étude du temps depuis la dernière prise n'a pas pu être effectuée.

L'analyse par gène n'est pas interprétable compte tenu des petits effectifs, les résultats sont néanmoins présentés dans le Tableau 19 à titre indicatif.

Tableau 19 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'utilisation de traitements hormonaux substitutifs en fonction du gène muté

	Cohorte « entière » (39 666 Personne-années)					BRCA1 (25 045 Personne-années)					BRCA2 (14 621 Personne-années)				
	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Traitements hormonaux substitutifs ^d															
Jamais	946	40	1,00			554	25	1,00			392	15	1,00		
Actuellement	343	16	1,20	0,61-2,34	ns	162	10	1,48	0,65-3,35	ns	181	6	0,70	0,24-2,02	ns
Passée	59	3	1,51	0,34-6,73	ns	31	1	1,02	0,09-11,2	ns	28	2	1,21	0,23-6,26	ns
Non ménopausée	37 261	312	0,81	0,51-1,27	ns	23 724	198	0,65	0,39-1,08	ns	13 537	114	1,75	0,65-4,68	0,27
Durée cumulée d'utilisation ^d															
Jamais	946	40	1,00			554	25	1,00			392	15	1,00		
<5ans	228	9	0,67	0,29-1,57	ns	126	5	0,71	0,25-2,06	ns	102	4	0,63	0,17-2,24	ns
>5 ans	167	10	2,29	1,07-4,89	0,03	67	6	3,46	1,53-7,85	<10 ⁻³	100	4	0,89	0,27-2,91	ns
Temps depuis dernière utilisation ^d															
Depuis <1an	509	21	1,00			251	12	1,00			258	9	1,00		
Depuis 2 à 5 ans	49	2	1,27	0,20-7,90	ns	25	1	1,02	0,08-13,2	ns	24	1	1,23	0,12-13,0	ns
Depuis plus de 5 ans	32	1	0,57	0,05-6,96	ns	26	0			<10 ⁻³	6	1	10,0	0,3-334	ns

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur le nombre de GMT, l'indice de masse corporelle et le gène muté

II. Type et localisation des mutations

A. Type des mutations

La variation du risque de cancer du sein associé au type et à la localisation des mutations dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* est décrite dans le Tableau 20. Nous ne mettons pas en évidence de différence significative entre les mutations tronquantes et les « autres types » ni dans *BRCA1* (« autres types » *versus* tronquantes : HR=1,06 [IC95%=0,68-1,66]), ni dans *BRCA2* (« autres types » *versus* tronquantes : HR=0,49 [IC95%=0,18-1,29]) même si l'estimation ponctuelle montre une diminution du risque de cancer du sein de 50% pour ce dernier.

Sur les 73 mutations « autres types » de *BRCA1*, on compte 50 mutations faux sens, 16 délétions ou insertions introniques, 5 délétions sans décalage du cadre de lecture et 2 délétions totales du gène. Pour *BRCA2*, sur les 26 mutations « autres types », on compte 8 mutations faux sens, 12 délétions ou insertions introniques, 3 délétions sans décalage du cadre de lecture et 3 délétions totales du gène.

Les mutations « autres types » étant peu nombreuses et de types différents, la localisation des mutations n'a été étudiée que pour les mutations tronquantes.

Tableau 20 : Variation du risque de cancer du sein associé au type de mutation dans les gènes *BRCA1* and *BRCA2*

	Personne- années ^c	Témoins	Cas	HR ^a	IC95% ^b	p-value
<i>BRCA1</i>						
Type de mutation						
Tronquante	22 057	353	209	1,00		
Autre type	2 988	42	31	1,06	0,68-1,66	ns
<i>BRCA2</i>						
Type de mutation						
Tronquante	13 493	198	131	1,00		
Autre type	1 128	18	8	0,49	0,18-1,29	ns

a: HR= hazard ratio

b: IC95%= intervalle de confiance à 95%

c: les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

B. Localisation des mutations tronquantes

1. Méthode gnostique

a) Analyse par domaine fonctionnels

Les résultats de l'analyse du risque en fonction de la conservation des domaines fonctionnels des gènes *BRCA1* et *BRCA2* par les mutations tronquantes sont présentés respectivement Tableau 21 et Tableau 22.

Les analyses ne montrent aucune variation de risque en fonction de la conservation ou non du domaine d'intérêt pour tous les domaines de *BRCA1* excepté pour BRCT2 (*cf.* Tableau 21). En effet, que le domaine RING soit conservé (la mutation tronquante intervient après le dernier codon du domaine) ou non, aucune variation significative du risque n'est observée (HR=1,07 [IC95%=0,60-1,90]). Il en est de même pour le domaine NLS1 (HR=0,93 [IC95%=0,64-1,35]), le domaine de liaison à l'ADN (HR=1,12 [IC95%=0,80-1,55]), le domaine coil-coiled (HR=1,10 [IC95%=0,76-1,59]) et le domaine BRCT1 (HR=1,07 [IC95%=0,67-1,73]). En revanche, la conservation du domaine BRCT2 est associée à une augmentation du risque d'un facteur 5 [IC95%=2,51-10,3]). Les risques associés aux différents domaines ne pouvant être comparés (pour chaque domaine la zone de référence étant différente), j'ai considéré les différents domaines au sein d'un même modèle ayant comme classe de référence « aucun domaine conservé » (c'est-à-dire les femmes porteuses d'une mutation tronquante située avant le dernier codon du domaine RING). Malgré le changement de classe de référence, les résultats diffèrent peu des précédents (exemple : conservation du domaine NLS1 *versus* aucun domaine conservé : HR=0,84 [IC95%=0,42-1,67]). BRCT2 est toujours associé à une augmentation du risque de cancer du sein d'un facteur 5.

Tableau 21 : Variation du risque de cancer du sein associé à la conservation des domaines fonctionnels du gène *BRCA1*

	Nb personne- années ^c	Nb de cas	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Ring					
non conservé	2 045	18	1,00		
conservé	20 012	191	1,07	0,60-1,90	ns
NLS1					
non conservé	5 199	48	1,00		
conservé	16 858	161	0,93	0,64-1,35	ns
Domaine de liaison à l'ADN					
non conservé	8 751	78	1,00		
conservé	13 306	131	1,12	0,80-1,55	ns
Coil-coiled					
non conservé	16 491	153	1,00		
conservé	5 566	56	1,10	0,76-1,59	ns
BRCT1					
non conservé	19 250	182	1,00		
conservé	2 807	27	1,07	0,67-1,73	ns
BRCT2					
non conservé	21 979	207	1,00		
conservé	78	2	5,09	2,51-10,3	<10 ⁻³
Domaines conservés					
Aucun domaine	2 045	18	1,00		
Ring	3 154	30	1,22	0,62-2,41	ns
NLS1	3 552	30	0,84	0,42-1,67	ns
Domaine de liaison à l'ADN	7 740	75	1,10	0,59-2,03	ns
Coil-coiled	2 759	29	1,16	0,57-2,37	ns
BRCT1	2 729	25	1,06	0,52-2,18	ns
BRCT2	78	2	5,41	2,25-13,0	0,00

a: HR= Hasard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

Le gène *BRCA2* semble être le siège de variations du risque de cancer du sein en fonction de la conservation de ses différents domaines fonctionnels (cf. Tableau 22).

On observe une augmentation des estimations ponctuelles du risque de cancer du sein à partir de la conservation du domaine BRC2 (HR=1,24 [IC95%=0,75-2,03]) jusqu'au domaine DBD (HR=1,94 [IC95%=0,75-2,03]). L'augmentation du risque associée à la conservation des domaines est proche de la significativité pour les domaines BRC5 (HR=1,58 [IC95%=0,98-2,53]) et BRC8 (HR=1,57 [IC95%=0,98-2,51]) et significative pour les domaines BRC6 (HR=1,75 [IC95%=1,10-2,77]) et BRC7 (HR=1,62 [IC95%=1,02-2,56]). La conservation du domaine DBD est également associée à une augmentation de l'estimation du risque bien que non significative (HR=1,94 [IC95%=0,66-5,66]). La variation du risque associée à la conservation des domaines NLS1, NLS2 et NLS3 n'a pu être étudiée du fait de la rareté (NLS1), voir l'absence (NLS2 et NLS3) de mutation tronquante après le dernier codon de ces domaines. L'analyse de la variable intégrant tous les domaines fonctionnels montre quelques différences par rapport aux analyses domaine par domaine du fait du changement de classe de référence. L'augmentation des estimations ponctuelles du risque commence à partir de la conservation du domaine BRC6 (HR=1,31 [IC95%=0,42-4,09]) mais reste cependant non significative. Cette variable ne permet pas l'étude de la variation du risque associée à la conservation des domaines NLS1, NLS2 et NLS3 (pour les raisons citées précédemment), et du domaine BCR3, aucun cas n'étant porteur de mutation tronquante entre le dernier codon du domaine BCR3 et le dernier codon du domaine suivant.

Tableau 22 : variation du risque de cancer du sein associé à la conservation des domaines fonctionnels du gène *BRCA2*

	Nb personne- années ^c	Nb de cas	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Domaine d'activation de la transcription					
non conservé	765	7	1,00		
Conservé	12 728	124	1,12	0,40-3,10	ns
BRC1					
non conservé	4 031	40	1,00		
Conservé	9 462	91	0,96	0,57-1,61	ns
BRC2					
non conservé	4 619	42	1,00		
Conservé	8 874	89	1,24	0,75-2,03	ns
BRC3					
non conservé	5 155	46	1,00		
Conservé	8 338	85	1,30	0,8-2,11	Ns
BRC4					
non conservé	5 297	46	1,00		
Conservé	8 196	85	1,41	0,87-2,28	Ns
BRC5					
non conservé	5 881	49	1,00		
Conservé	7 612	82	1,58	0,98-2,53	0,06
BRC6					
non conservé	6 421	52	1,00		
Conservé	7 072	79	1,75	1,10-2,77	0,02
BRC7					
non conservé	8 242	70	1,00		
Conservé	5 251	61	1,62	1,02-2,56	0,04
BRC8					
non conservé	8 615	75	1,00		
Conservé	4 878	56	1,57	0,98-2,51	0,06
DBD					
non conservé	13 040	125	1,00		
Conservé	453	6	1,94	0,66-5,66	ns
NLS1					
non conservé	13 447	130	1,00		
Conservé	46	1	14,5	8,35-25,0	<10 ⁻³
NLS2					
non conservé	13 493	131			
Conservé	0	0			
NLS3					
non conservé	13 493	131			
Conservé	0	0			

Tableau 21 : variation du risque de cancer du sein associé à la conservation des domaines fonctionnels du gène *BRCA2* (suite)

	Nb personne- années ^c	Nb de cas	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Domaines conservés					
Aucun domaine	765	7	1,00		
Domaine d'activation de la transcription	3 266	33	1,20	0,40-3,65	ns
BRC1	588	2	0,25	0,04-1,50	ns
BRC2	536	4	0,79	0,16-3,83	ns
BRC3	142	0			
BRC4	584	3	0,45	0,08-2,49	ns
BRC5	540	3	0,48	0,09-2,62	ns
BRC6	1 821	18	1,31	0,42-4,09	ns
BRC7	373	5	1,54	0,34-7,00	ns
BRC8	4 425	50	1,43	0,49-4,15	ns
DBD	407	5	1,89	0,43-8,39	ns
NLS1	46	1	16,7	5,43-51,4	<10 ⁻³
NLS2	0	0			
NLS3	0	0			

a: HR= Hasard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

b) Analyse prenant en compte le phénomène NMD

Les variations du risque associées à l'initiation du phénomène NMD sont présentées dans le Tableau 23.

Les mutations ont été codées initiatrice ou non du phénomène NMD selon la classification en deux classes de Antoniou *et al.* [139]. La classe 1 correspond aux mutations entraînant une absence de protéine du fait de l'instabilité de la protéine ou par le phénomène NMD ou encore, une absence de protéine du fait de la localisation des mutations dans les régions régulatrices de la transcription. La classe 2 regroupe les mutations générant une protéine potentiellement stable et ayant conservé une partie de ses fonctions, c'est-à-dire les mutations faux sens, et les mutations tronquantes entraînant l'apparition d'un codon stop prématuré dans le dernier exon.

Aucune variation évidente du risque de cancer du sein en fonction de la présence ou non de protéine tronquée n'est observée ni pour le gène *BRCA1* (présence de protéine *versus* absence de protéine : HR=1,08 [IC95%=0,72-1,60]), ni pour le gène *BRCA2* (présence de protéine *versus* absence de protéine : HR=1,20 [IC95%=0,73-5,35]).

Tableau 23 : variation du risque de cancer du sein associé à l'initiation du phénomène NMD

	Nb personne- années ^c	Nb de cas	HR ^a	IC95% ^b	p-value
NMD dans <i>BRCA1</i>					
présence de NMD	15 070	149	1,00		
absence de NMD	4 266	43	1,08	0,72-1,60	ns
Inconnu	5 709	48	0,88	0,60-1,29	ns
NMD dans <i>BRCA2</i>					
présence de NMD	12 344	119	1,00		
absence de NMD	318	3	1,20	0,27-5,35	ns
Inconnu	1 959	17	1,05	0,57-1,95	ns

a: HR= Hasard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

2. Méthode agnostique

La distribution des mutations tronquantes est présentée Figure 21 pour *BRCA1* et Figure 22 pour *BRCA2*.

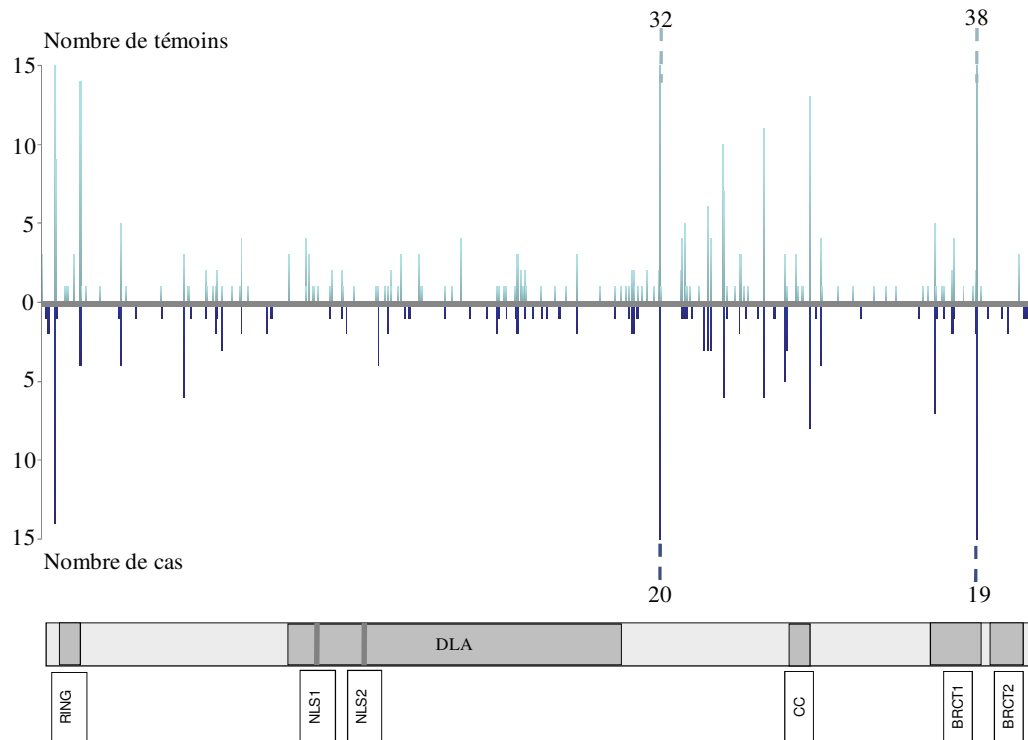


Figure 21 : Distribution des cas et des témoins en fonction de la localisation de leur mutation dans le gène *BRCA1*

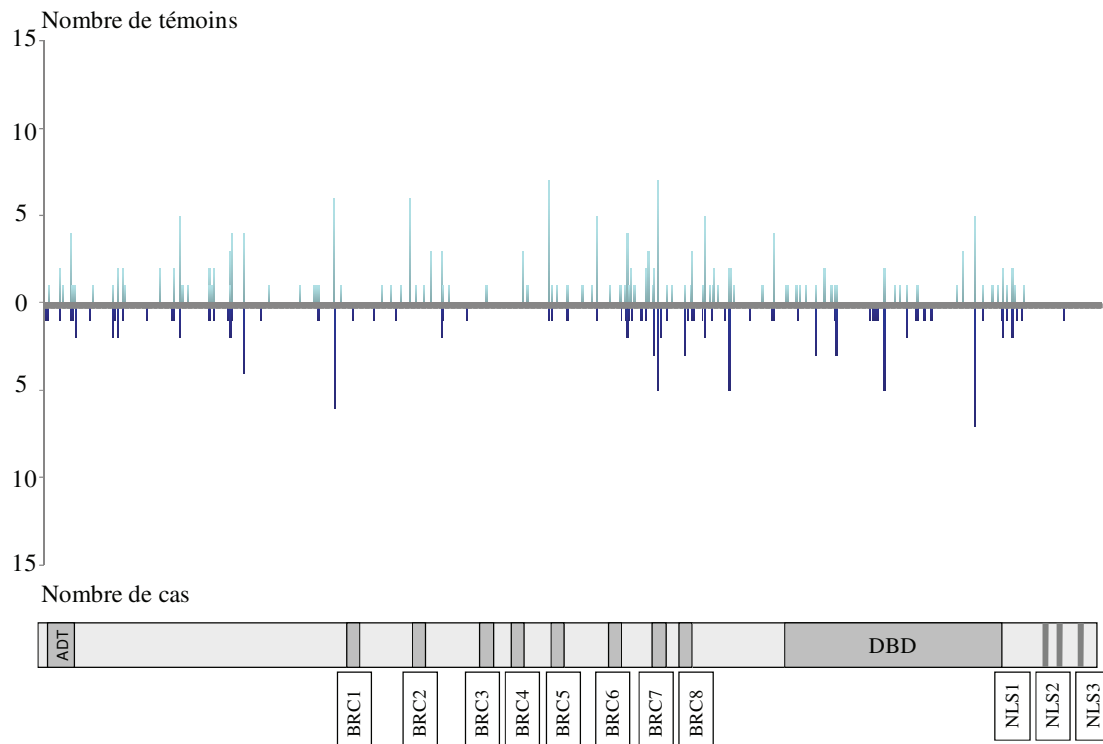


Figure 22 : Distribution des cas et des témoins en fonction de la localisation de leur mutation dans le gène *BRCA2*

A partir des 20 régions (cf. Tableau 3 et Tableau 4) la méthode agnostique a permis de déterminer trois régions homogènes dans le gène *BRCA1* et quatre dans le gène *BRCA2* (cf. Tableau 24).

Pour *BRCA1*, les mutations tronquantes situées entre les codons 374 et 1161 sont associées à une diminution significative du risque de cancer du sein par rapport aux mutations situées avant le 373^{ème} codon (HR=0,59 [IC95%=0,36-0,97] ; p=0,04). J'ai nommé cette région centrale à moindre risque LR1 pour « Low Risk region in *BRCA1* ». Les mutations situées dans la troisième région homogène, c'est-à-dire après le 1161^{ème} codon, sont associées à une diminution non significative du risque (HR=0,87 [IC95%=0,58-1,30]). Pour le gène *BRCA2*, en comparaison avec les mutations situées avant le 957^{ème} codon, celles situées dans la région LR2 (pour « Low Risk region in *BRCA2* »), c'est-à-dire entre les codons 957 et 1827, sont associées à une diminution significative du risque (HR=0,35 [IC95%=0,15-0,80] ; p=0,005). *A contrario*, les mutations situées entre les codons 2546 et 2968 (HR2 pour « High Risk region in *BRCA2* ») sont associées à une augmentation du risque (HR=3,56 [IC95%=1,49-8,50] ; p=0,01).

Tableau 24 : Variation du risque de cancer du sein associé à la localisation des mutations tronquantes dans les gènes *BRCA1* and *BRCA2*

	Personne- années ^c	Témoins	Cas	HR ^a	IC95% ^b	p-value
<i>BRCA1</i>						
Codons						
0-373	4 327	71	43	1,00		
374-1161 (LR1)	5 367	89	43	0,59	0,36-0,97	0,04
1162-1851	12 363	193	123	0,87	0,58-1,30	ns
<i>BRCA2</i>						
Codons						
0-956	3 957	60	39	1,00		
957-1827 (LR2)	2 281	43	11	0,35	0,15-0,80	0,01
1828-2545	4 642	66	45	0,96	0,53-1,73	ns
2546-2968 (HR2)	1 137	10	19	3,56	1,49-8,50	0,01
2969-3418	1 476	19	17	1,49	0,70-3,19	ns

a: HR= Hasard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

3. Test de sensibilité

Afin de tester la sensibilité des résultats au tirage au sort que nous avons réalisé pour sélectionner notre population d'étude, nous avons réitéré ce tirage au sort et généré vingt autres populations d'études.

Les résultats obtenus sur les 20 échantillons sont présentés Tableau 25 et Tableau 26

Sur l'ensemble des échantillons, on observe des estimations ponctuelles du risque associé à la région LR1 toujours inférieures à 1, variant de 0,51 [IC95%=0.31-0.85] à 0,79 [IC95%=0.47-1.33] significatives dans 50% des cas. L'estimation du risque associé à la troisième région de *BRCA1* ne diffère jamais significativement de 1 sur l'ensemble des échantillons et varie de 0,78 [IC95%=0.52-1.17] à 1,00 [IC95%=0.65-1.52] (cf. Tableau 25).

Les estimations ponctuelles du risque associé à la région LR2 sont toujours inférieures à 1, variant de 0,30 [IC95%=0,17-0,72] à 0,52 [IC95%=0,24-1,12] et significatives dans 65% des cas (cf. Tableau 26). Enfin, on observe une augmentation significative du risque associée à la région HR2 pour la quasi-totalité des échantillons sauf 1, le risque variant de 2,15 ([IC95%=0.88-5.23], $p=0.09$) à 4,59 ([IC95%=2.09-11.6], $p\leq 10^{-3}$). L'estimation du risque associé aux deux autres régions de *BRCA2* ne diffère jamais significativement de 1 sur l'ensemble des échantillons et varie de 0,76 [IC95%=0.42-1.40] à 1,13 [IC95%=0.62-2.08] pour l'une et de 0,96 [IC95%=0.43-2.16] à 1,60 [IC95%=0.74-3.46] pour l'autre.

Tableau 25 : Estimation du risque de cancer du sein associé à la localisation des mutations tronquantes dans la région LR1 du gène *BRCA1* dans les 20 échantillons « une femme par famille »

Numéro d'échantillon	HR ^a	IC95% ^b	p-value
1	0,72	0,44-1,17	ns
2	0,56	0,34-0,90	0,02
3	0,60	0,37-0,99	0,04
4	0,56	0,33-0,93	0,03
5	0,67	0,40-1,13	ns
6	0,57	0,35-0,93	0,03
7	0,51	0,31-0,85	0,01
8	0,71	0,43-1,19	ns
9	0,73	0,44-1,20	ns
10	0,62	0,37-1,04	0,06
11	0,58	0,35-0,94	0,02
12	0,56	0,34-0,92	0,03
13	0,64	0,39-1,04	0,08
14	0,57	0,36-0,93	0,03
15	0,76	0,45-1,27	ns
16	0,79	0,47-1,33	ns
17	0,70	0,43-1,15	ns
18	0,66	0,40-1,10	ns
19	0,57	0,35-0,93	0,03
20	0,56	0,34-0,92	0,02

a: HR= Hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

Tableau 26 : Estimation du risque de cancer du sein associé à la localisation des mutations tronquantes dans la région LR2 et HR2 du gène *BRCA2* dans les 20 échantillons « une femme par famille »

Numéro d'échantillon	LR2			HR2		
	HR ^a	IC95% ^b	p-value	HR ^a	IC95% ^b	p-value
1	0,37	0,15-0,91	0,02	2,87	1,28-6,43	0,04
2	0,48	0,21-1,07	0,07	3,11	1,29-7,49	0,03
3	0,47	0,21-1,05	0,05	2,96	1,28-6,86	0,03
4	0,51	0,23-1,12	0,09	3,96	1,71-9,20	0,01
5	0,40	0,18-0,90	0,02	2,85	1,22-6,67	0,03
6	0,47	0,21-1,06	0,06	3,32	1,42-7,75	0,02
7	0,43	0,19-0,99	0,04	4,14	1,85-9,24	0,01
8	0,43	0,19-0,96	0,03	3,14	1,29-7,67	<10 ⁻³
9	0,48	0,22-1,06	0,06	3,11	1,28-7,57	0,02
10	0,46	0,21-1,02	0,04	3,04	1,29-7,15	0,02
11	0,40	0,18-0,90	0,02	3,65	1,54-8,62	0,01
12	0,41	0,17-0,96	0,02	3,18	1,28-7,91	0,02
13	0,42	0,19-0,96	0,03	2,98	1,32-6,71	0,03
14	0,38	0,17-0,88	0,01	2,82	1,17-6,80	0,04
15	0,50	0,22-1,12	0,08	3,22	1,26-8,22	0,02
16	0,49	0,22-1,10	0,07	2,88	1,21-6,85	0,03
17	0,30	0,13-0,72	<10 ⁻³	2,15	0,88-5,23	0,11
18	0,46	0,21-1,01	0,04	2,92	1,18-7,19	0,03
19	0,35	0,15-0,82	0,01	3,59	1,53-8,43	0,01
20	0,43	0,19-1,00	0,04	4,91	2,08-11,6	<10 ⁻³

a: HR= Hasard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

III. Résultats des analyses menées sur la cohorte pseudo-incidente

Compte tenu du délai moyen de 8 ans entre la date de diagnostic de cancer du sein et la date d'inclusion, un biais de survie ne pouvait être exclu. L'analyse du risque associé aux facteurs de risque gynéco-obstétrique et de « style de vie » et aux régions homogènes des gènes *BRCA1* et *BRCA2* précédemment étudiés a été réalisée sur la cohorte pseudo-incidente. Les résultats sont présentés dans les Tableau 27 à Tableau 35.

Bien que les effectifs de la cohorte pseudo-incidente soient réduits (3 815 personne-années dont 152 cas), les estimations ponctuelles du risque sont comparables à celles de la cohorte « une femme par famille » pour l'ensemble des facteurs et ne mettent pas en évidence de biais de survie associé à l'ensemble des variables y compris en ce qui concerne le tabac et l'alcool (*cf.* Tableau 28).

Tableau 27 : Variation du risque de cancer du sein associé à la localisation des mutations tronquantes dans les gènes *BRCA1* and *BRCA2* dans la cohorte pseudo-incidente

	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
<i>BRCA1</i>					
Codons					
0-373	425	20	1,00		
374-1 160 (LR1)	498	22	0,46	0,23-0,92	0,03
1 161-1 851	1 046	45	0,68	0,38-1,23	ns
<i>BRCA2</i>					
Codons					
0-956	362	20	1,00		
957-1 827 (LR2)	211	4	0,21	0,06-0,74	0,02
1 828-2 545	393	21	0,83	0,39-1,78	ns
2 546-2 967 (HR2)	78	8	2,99	0,93-9,64	0,07
2 968-3 418	114	9	1,75	0,66-4,64	ns

a: HR= Hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

Tableau 28 : Variation du risque de cancer du sein associé aux expositions thoraciques aux rayons X, à la consommation de tabac et d'alcool dans la cohorte pseudo-incidente

	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Exposition thoracique aux rayons X ^d										
Jamais exposée	685	8	1,00							
≥1 rayons X	3 005	140	3,00	1,32-6,80	0,01					
	Non consommatrices d'alcool					consommatrices d'alcool				
Consommation de tabac ^d										
Jamais	718	24	1,00			1268	52	1,00		
Actuellement	200	11	1,87	0,71-4,92	ns	851	34	0,78	0,46-1,32	ns
Passée	117	4	0,59	0,16-2,23	ns	581	24	0,80	0,47-1,37	ns
	Non fumeuses					fumeuses				
Consommation d'alcool ^d										
Jamais	718	24	1,00			317	15	1,00		
Actuellement	1268	52	1,28	0,72-2,25	ns	1432	58	0,84	0,42-1,66	ns

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c: les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur le nombre de GMT, le statut ménopausique et le nombre d'années d'interruption de la consommation de tabac

Tableau 29 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'indice de masse corporelle dans la cohorte pseudo-incidente

	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
IMC ^d					
18,5-25	2 735	118	1,00		
>25	830	19	0,50	0,29-0,86	0,01
<18,5	235	15	2,00	1,09-3,50	0,03
Femmes non ménopausées ^e					
18,5-25	2 334	98	1,00		
>25	593	14	0,50	0,27-0,93	0,03
<18,5	208	14	2,23	1,24-4,05	0,01
Femmes ménopausées ^e					
18,5-25	341	18	1,00		
>25	212	5	0,51	0,17-1,54	ns
<18,5	17	1	1,15	0,16-8,12	ns

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur le nombre de GMT, le statut ménopausique, et le gène muté

e: ajusté sur le nombre de GMT et le gène muté

Tableau 30 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'âge aux premières règles et à la durée des cycles dans la cohorte pseudo-incidente

	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Age aux premières règles ^d					
<12 ans	610	26	1,00		
entre 12 et 14 ans	2 685	102	0,91	0,55-1,49	ns
>15 ans	505	24	1,01	0,51-2,00	ns
jamais	10	0			
Age aux premières règles ^d					
<12 ans	610	26	1,00		
>12 ans	3 190	126	0,93	0,57-1,51	ns
jamais	10	0			
Durée des cycles ^d					
24-31 jours	2 590	90	1,00		
20-24 jours	410	27	2,34	1,45-3,78	<10 ⁻³
>31 jours	175	6	1,08	0,46-2,56	ns

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur le nombre de GMT, le statut ménopausique, la contraception et le gène muté

Tableau 31 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'utilisation de traitements contraceptifs dans la cohorte pseudo-incidente

	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Utilisation de traitements contraceptifs ^d					
Jamais	685	20	1,00		
En cours	1 215	30	0,98	0,48-2,02	ns
Passée	1 681	89	1,45	0,80-2,64	ns
Durée cumulée d'utilisation ^d					
Jamais	685	20	1,00		
<5ans	778	30	1,50	0,77-2,94	ns
>5 ans	2 079	88	1,27	0,67-2,38	ns
Temps depuis la dernière utilisation ^d					
Arrêt depuis <1an	1 215	30	1,00		
Arrêt depuis 2 à 5 ans	543	32	1,75	0,95-3,20	0,07
Arrêt depuis 6 à 10 ans	348	11	0,98	0,46-2,08	ns
Arrêt depuis plus de 11 ans	786	46	1,53	0,85-2,76	ns

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur le nombre de GMT, le statut ménopausique, et le gène muté

Tableau 32 : Variation du risque de cancer du sein associé aux grossesses menées à terme et à l'allaitement dans la cohorte pseudo-incidente

	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
GMT ^d					
Nullipare	988	26	1,00		
Au moins une	2 827	126	0,93	0,54-1,60	ns
Nb de GMT ^d					
0	988	26	1,00		
1	768	40	1,22	0,67-2,24	ns
2	1 237	54	0,88	0,49-1,58	ns
≥3	822	32	0,73	0,38-1,40	ns
Allaitement ^e					
Jamais	1 181	57	1,00		
Oui	1 573	68	0,97	0,65-1,47	ns
Nullipare	988	26	0,65	0,30-1,39	ns
Durée cumulée d'allaitement ^e					
<10 mois	1 342	64	1,00		
≥10 mois	231	4	0,53	0,22-1,32	ns
Jamais	1 181	57	0,96	0,63-1,45	ns
Nullipare	988	26	0,65	0,29-1,45	ns

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur le statut ménopausique, la contraception et le gène muté

e: ajusté sur le nombre de GMT, le statut ménopausique, la contraception et le gène muté

Tableau 33 : Variation du risque de cancer du sein associé aux grossesses interrompues et au score TMAP dans la cohorte pseudo-incidente

	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Grossesses interrompues ^d					
Aucune	2 498	87	1,00		
≥1	1 307	63	1,14	0,79-1,65	ns
Nb de grossesses interrompues ^d					
0	2 498	87	1,00		
1	893	41	1,00	0,66-1,52	ns
2	303	12	1,10	0,58-2,11	ns
≥3	111	10	2,84	1,42-5,68	<10 ⁻³
Score TMAP (chez les femmes pares) ^e					
] 0-0,35]	1 228	52	1,00		
] 0,35-0,45]	1 224	55	0,97	0,63-1,50	ns
] 0,45-1,00]	341	16	1,22	0,65-2,28	ns

a: HR=hazard ratio
b: IC95% = intervalle de confiance à 95%
c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau
d: ajusté sur le nombre de GMT, le statut ménopausique, la contraception et le gène muté
e: ajusté sur le statut ménopausique, la contraception et le gène muté^d

Tableau 34 : Variation du risque de cancer du sein associé au statut ménopausique dans la cohorte pseudo-incidente

	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Statut ménopausique ^d					
Non ménopausée	3 145	126	1,00		
Post-ménopause	575	24	0,84	0,38-1,84	ns
Type de ménopause ^d					
Non ménopausée	3 145	126	1,00		
Naturelle	414	20	1,31	0,43-4,00	ns
Artificielle	161	4	0,52	0,16-1,72	ns
Age à la ménopause naturelle ^d					
Non ménopausée	3 145	126	1,00		
Avant 50 ans	156	7	1,15	0,35-3,79	ns
Après 50 ans	258	13	1,86	0,36-9,63	ns
Nombre d'années depuis la ménopause naturelle ^d					
Non ménopausée	3 145	126	1,00		
<5 ans	138	8	1,29	0,38-4,37	ns
5-9 ans	116	4	1,45	0,33-6,41	ns
>9 ans	160	8	1,23	0,30-4,95	ns

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur le nombre de GMT, traitements hormonaux substitutifs, l'indice de masse corporelle et le gène muté

Tableau 35 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'utilisation de traitements hormonaux substitutifs dans la cohorte pseudo-incidente

	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Traitements hormonaux substitutifs ^d					
Jamais	352	14	1,00		
En cours	172	8	1,16	0,41-3,27	ns
Passée	46	2	0,72	0,13-3,96	ns
Non ménopausée	3 135	126	1,20	0,53-2,69	ns
Durée cumulée d'utilisation ^d					
Jamais	352	14	1,00		
<5ans	91	5	0,87	0,25-2,99	ns
>5 ans	122	5	1,35	0,43-4,27	ns
Non ménopausée	3 135	126	1,16	0,53-2,54	ns
Temps depuis la dernière utilisation ^d					
Arrêt depuis <1an	229	11	1,00		
Arrêt depuis 2 à 5 ans	32	1	0,40	0,03-5,26	ns
Arrêt depuis plus de 5 ans	16	1	1,92	0,22-16,6	ns

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur le nombre de GMT, l'indice de masse corporelle et le gène muté

IV. Interaction facteurs de risque/localisation des mutations

Après avoir étudié les facteurs de risque gynéco-obstétriques et de « style de vie » sur l'ensemble de la cohorte « une femme par famille » et en fonction du gène muté, j'ai étudié ces facteurs en fonction de la localisation des mutations dans les zones homogènes définies précédemment (cf. Page 136).

Deux groupes de mutations ont été considérés pour le gène *BRCA1* : les mutations situées en dehors de la région LR1 (avant le 373^{ème} codon ; après le 1162^{ème} codon), et à l'intérieur de la région LR1 (entre le 373^{ème} codon et le 1162^{ème} codon) (cf. Figure 23).

Trois groupes de mutations ont été considérés pour le gène *BRCA2* : les mutations situées en dehors des régions LR2 et HR2 (avant le 957^{ème} codon ; entre le 1828^{ème} codon et le 2546^{ème} codon ; après le 2969^{ème} codon) ; les mutations situées dans la région LR2 (entre le 957^{ème} codon et le 1828^{ème} codon) et celles situées dans la région HR2 (entre le 2546^{ème} codon et le 2969^{ème} codon) (cf. Figure 23).

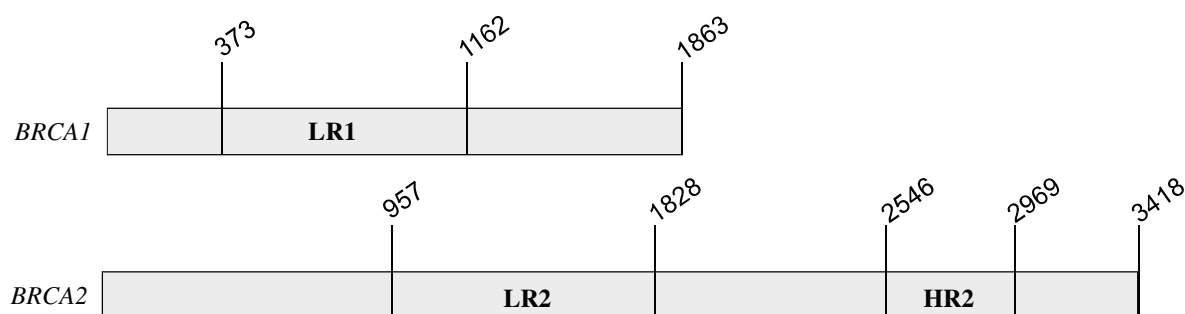


Figure 23 : Régions homogènes dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* définie dans la cohorte GENEPSO

Pour la plupart des facteurs étudiés, aucune variation de risque en fonction de la localisation des mutations dans les régions homogènes n'a été mise en évidence excepté pour la parité et la ménopause. Les résultats obtenus pour l'ensemble des facteurs étudiés sont résumés dans les tableaux 36 à 55.

Tableau 36 : Variation du risque de cancer associé aux expositions thoraciques aux rayons X en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène *BRCA1*

	En dehors de LR1 (16 690 personne-années)					LR1 (5 367 personne-années)				
	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Exposition thoracique aux rayons X ^d										
Jamais exposée	2 075	4	1,00			843	3	1,00		
≥1 rayons X	14 298	161	3,86	1,33-11 ,2	0,01	4 411	39	2,42	0,67-8,76	ns
Age à la première exposition										
Jamais exposée	2 075	4	1,00			843	3	1,00		
Avant l'âge de 20 ans	13 244	145	3,67	1,26-10,6	0,02	4 209	37	2,40	0,66-8,69	0,18
Après l'âge de 20 ans	1 054	16	7,31	2,29-23,3	<10 ⁻³	202	2	3,50	0,40-30,6	0,26
Nombre d'expositions ^d					<10 ⁻³					
Jamais exposée	2 075	4	1,00			843	3	1,00		
Une seule période avec 1-4	733	9	6,56	1,84-23,4	<10 ⁻³	152	1	0,94	0,05-18,1	ns
Deux périodes avec 1-4	4 127	32	2,72	0,88-8,39	0,08	1 213	10	2,45	0,61-9,85	ns
Au moins une période avec	8 175	115	5,17	1,74-15,3	<10 ⁻³	2 707	26	2,64	0,71-9,88	ns

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: variables d'ajustement : le nombre de GMT et statut ménopausique

Tableau 37 : Variation du risque de cancer associé aux expositions thoraciques aux rayons X en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène *BRCA2*

	Nb de personne- années ^c	En dehors de LR2 et HR2 (10 075 personne-années)			
		Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Exposition thoracique aux rayons X ^d					
Jamais exposée	895	2	1,00		
≥1 rayons X	8 955	99	3,65	0,75-17,8	ns
Age à la première exposition ^d					
Jamais exposée	895	2	1,00		
Avant l'âge de 20 ans	8 131	87	3,45	0,71-16,9	ns
Après l'âge de 20 ans	824	12	7,23	1,30-40,2	0,02
Nombre d'expositions ^d					
Jamais exposée	895	2	1,00		
Une seule période avec 1-4 expositions	291	2	3,64	0,48-27,5	ns
Deux périodes avec 1-4 expositions	2 203	9	1,10	0,19-6,44	ns
Au moins une période avec + 5 expositions	5 849	83	6,24	1,21-32,1	0,03

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: variables d'ajustement : le nombre de GMT et statut ménopausique

Tableau 38 : Variation du risque de cancer associé à la consommation de tabac et d'alcool en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène *BRCA1*

	En dehors de LR1 (16 690 personne-années)					LR1 (5 367 personne-années)				
	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Non consommatrices d'alcool										
Consommation de tabac ^d										
Jamais	3 616	26	1,00			1 029	7	1,00		
Actuellement	478	8	1,67	0,63-4,41	ns	170	4	3,36	0,63-17,9	ns
Passée	192	4	0,52	0,13-2,05	ns	33	0			
Non fumeuses										
Consommation d'alcool ^d										
Jamais	3 616	26	1,00			1 029		1,00		
Actuellement	9 201	69	1,23	0,73-2,08	ns	2 832	14	0,74	0,23-2,36	ns

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur le nombre de GMT, le statut ménopausique et le nombre d'années d'interruption de la consommation de tabac

Tableau 39 : Variation du risque de cancer associé à la consommation de tabac et d'alcool en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène *BRCA2*

	En dehors de LR2 et HR2 (10 075 personne-années)					LR2 (2 281 personne-années)					HR2 (1 137 personne-années)				
	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Consommation de tabac ^d															
Jamais	7 781	57	1,00			1 712	4	1,00			754	7	1,00		
Actuellement	2 125	44	1,12	0,62-2,01	0,71	537	7	2,84	0,61-13,3	0,19	345	11	0,67	0,17-2,56	ns
Consommation d'alcool ^e															
Jamais	3 110	24	1,00			515	3	1,00			259	5	1,00		
Actuellement	6 965	77	1,82	0,95-3,48	0,07	1 766	8	0,38	0,07-1,90	ns	878	14	0,28	0,05-1,44	ns
Consommation d'alcool vers l'âge de 20 ans (verres par semaine) ^e															
Jamais	6 319	60	1,00			979	7	1,00			454	9	1,00		
1 - 5	1 630	17	1,19	0,56-2,53	ns	788	2	0,46	0,07-2,89	ns	302	3	0,10	0,01-0,75	0,03
>5	2 015	23	1,89	0,95-3,75	0,07	474	2	0,52	0,07-4,01	ns	305	6	0,69	0,19-2,48	ns

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur le nombre de GMT, le statut ménopausique, la consommation d'alcool et le nombre d'années d'interruption de la consommation de tabac

e: ajusté sur le nombre de GMT, le statut ménopausique, la consommation de tabac et le nombre d'années d'interruption de la consommation de tabac

Tableau 40 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'indice de masse corporelle en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène *BRCA1*

	En dehors de LR1 (16 690 personne-années)					LR1 (5 367 personne-années)				
	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
IMC^d										
18,5-25	11 415	121	1,00			3 391	27	1,00		
>25	4 258	37	0,60	0,39-0,92	0,02	1 691	12	1,07	0,48-2,40	ns
<18,5	929	8	1,15	0,49-2,66	ns	250	4	3,44	1,21-9,79	0,02
Chez les femmes non ménopausées^e										
18,5-25	10 863	101	1,00			3 222	26	1,00		
>25	3 985	24	0,45	0,27-0,76	<10 ⁻³	1 611	11	1,05	0,47-2,37	ns
<18,5	882	8	1,55	0,72-3,33	ns	246	3	2,21	0,56-8,67	ns
Chez les femmes ménopausées^e										
18,5-25	208	14	1,00			90	1	1,00		
>25	211	13	1,23	0,48-3,14	ns	80	1	0,72	0,06-8,22	ns
<18,5	7	0				4	1	24,9	6,06-102	<10 ⁻³

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

d: ajusté sur le nombre de GMT et le statut ménopausique

e: ajusté sur le nombre de GMT

Tableau 41 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'indice de masse corporelle en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène *BRCA2*

	En dehors de LR2 et HR2 (10 075 personne-années)					LR2 (2 281 personne-années)					HR2 (1 137 personne-années)				
	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p- value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	P-value
IMC ^d															
18,5-25	7 137	73	1,00			1 748	10	1,00			881	14	1,00		
>25	2 256	17	0,76	0,38-1,51	ns	533	1	0,23	0,02-2,24	ns	145	2	0,63	0,08-4,79	ns
<18,5	682	11	3,51	1,40-8,82	0,01	0	0				111	3	4,50	1,65-12,3	<10 ⁻³
chez les femmes non ménopausées ^e															
18,5-25	6 801	61	1,00			1 590	10	1,00			797	11	1,00		
>25	1 984	10	0,61	0,27-1,39	ns	500	1	0,24	0,02-2,32	ns	133	1	0,44	0,03-6,24	ns
<18,5	606	10	4,89	1,97-12,1	<10 ⁻³	0	0				111	3	5,38	1,88-15,4	<10 ⁻³
chez les femmes ménopausées ^e															
18,5-25	286	12	1,00			65	0				12	2	1,00		
>25	126	7	1,22	0,36-4,14	ns	33	0				12	1	0,34	0,09-1,20	0,09
<18,5	25	1	1,73	0,51-5,82	ns	0	0				0	0			

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

d: ajusté sur le nombre de GMT et le statut ménopausique

e: ajusté sur le nombre de GMT

Tableau 42 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'âge aux premières règles et à la durée des cycles en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène *BRCA1*

	En dehors de LR1 (16 690 personne-années)					LR1 (5 367 personne-années)				
	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Age aux premières règles ^d										
<12 ans	2 633	35	1,00			804	11	1,00		
entre 12 et 14 ans	11 670	104	0,60	0,38-0,97	0,04	3 662	25	0,30	0,12-0,73	0,01
>15 ans	2 313	27	0,76	0,39-1,45	ns	901	7	0,33	0,10-1,06	0,06
jamais	46	0				0	0			
Age aux premières règles ^d										
<12 ans	2 633	35	1,00			804	11	1,00		
>12 ans	13 983	131	0,62	0,39-1,00	0,05	4 563	32	0,31	0,13-0,73	0,01
jamais	46	0				0	0			
Durée des cycles ^d										
24-31 jours	11 107	96	1,00			3 609	28	1,00		
20-24 jours	1 690	23	2,04	1,18-3,53	0,01	434	4	1,64	0,69-3,92	ns
>31 jours	754	8	1,70	0,78-3,72	ns	257	3	2,46	0,54-11,1	ns

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur le nombre de GMT, le statut ménopausique et la contraception

Tableau 43 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'âge aux premières règles et à la durée des cycles en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène *BRCA2*

	En dehors de LR2 et HR2 (10 075 personne-années)					LR2 (2 281 personne-années)					HR2 (1 137 personne-années)				
	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-val	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Age aux premières règles ^d															
<12 ans	1 332	13	1,00			484	2	1,00			265	4	1,00		
entre 12 et 14 ans	7 493	75	0,87	0,37-2,00	ns	1 383	4	0,75	0,09-6,32	ns	531	9	2,91	0,46-18,6	ns
>15 ans	1 250	13	1,54	0,55-4,30	ns	414	5	4,09	0,42-39,9	ns	341	6	1,65	0,18-14,8	ns
jamais	0	0				0	0				0	0			
Age aux premières règles ^d															
<12 ans	1 332	13	1,00			484	2	1,00			265	4	1,00		
>12 ans	8 743	88	0,94	0,41-2,14	ns	1 797	9	1,36	0,18-9,98	ns	872	15	2,25	0,34-14,7	ns
jamais	0	0				0	0				0	0			
Durée des cycles ^d															
24-31 jours	7 291	70	1,00			1 268	5	1,00			740	11	1,00		
20-24 jours	928	9	0,64	0,21-1,95	ns	368	2	0,95	0,11-8,16	ns	210	4	0,87	0,12-6,53	ns
>31 jours	533	7	2,18	0,65-7,30	ns	175	1	1,46	0,11-19,9	ns	0	0			

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur le nombre de GMT, le statut ménopausique et la contraception

Tableau 44 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'utilisation de traitements contraceptifs en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène *BRCA1*

	En dehors de LR1 (16 690 personne-années)					LR1 (5 367 personne-années)				
	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Utilisation de traitements contraceptifs ^d										
Jamais	10 144	39	1,00			3 220	10	1,00		
Actuellement	3 541	36	0,82	0,49-1,37	ns	1 194	8	0,64	0,22-1,88	ns
Passée	2 317	81	0,93	0,58-1,48	ns	810	25	1,16	0,49-2,74	ns
Durée cumulée d'utilisation de traitements contraceptifs ^d										
Jamais	10 144	39	1,00			3 220	10	1,00		
<5ans	2 641	33	1,10	0,63-1,93	ns	810	9	1,07	0,35-3,28	ns
>5 ans	3 184	83	0,81	0,51-1,27	ns	1 185	24	0,98	0,42-2,30	ns
Temps depuis la dernière utilisation de traitements contraceptifs ^d										
Arrêt depuis <1an	3 541	36	1,00			1 194	8	1,00		
Arrêt depuis 2 à 5 ans	1 007	32	1,45	0,85-2,46	ns	350	8	2,02	0,64-6,41	ns
Arrêt depuis 6 à 10 ans	577	22	1,15	0,63-2,08	ns	215	9	2,53	0,82-7,76	ns
Arrêt depuis plus de 11 ans	733	27	0,92	0,50-1,69	ns	245	8	1,33	0,40-4,47	ns
Jamais	10 144	39	1,19	0,71-2,00	ns	3 220	10	1,54	0,53-4,52	ns
Age à la première utilisation ^d										
Jamais	10 144	39	1,00			3 220	10	1,00		
Avant 20 ans	3 580	66	1,19	0,70-2,05	ns	1 417	23	1,17	0,48-2,86	ns
Entre 20 et 25 ans	1 542	33	0,81	0,46-1,42	ns	415	6	0,79	0,24-2,64	ns
Après 25 ans	736	18	0,72	0,37-1,40	ns	172	4	0,82	0,20-3,38	ns

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur le nombre de GMT et le statut ménopausique

Tableau 45 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'utilisation de traitements contraceptifs en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène *BRCA2*

	En dehors de LR2 et HR2 (10 075 personne-années)					LR2 (2 281 personne-années)					HR2 (1 137 personne-années)				
	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p- value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Utilisation de traitements contraceptifs ^d															
Jamais	6 089	27	1,00			1 334	2	1,00			655	3	1,00		
Actuellement	1 834	11	0,58	0,23-1,47	ns	486	1	0,54	0,04-7,50	ns	224	3	0,66	0,11-4,14	ns
Passée	1 521	53	1,83	0,88-3,83	ns	354	7	1,60	0,24-10,7	ns	227	12	0,49	0,13-1,88	ns
Durée cumulée d'utilisation de traitements contraceptifs ^d															
Jamais	6 089	27	1,00			1 334	2	1,00			655	3	1,00		
<5ans	1 669	22	1,46	0,59-3,63	ns	369	2	0,86	0,08-9,10	ns	245	7	0,61	0,13-2,80	ns
>5 ans	1 672	42	1,47	0,69-3,11	ns	466	6	1,50	0,22-10,1	ns	206	8	0,47	0,11-2,03	ns
Temps depuis dernière utilisation de traitements contraceptifs ^d															
Arrêt depuis <1an	1 834	11	1,00			486	1	1,00			224	3	1,00		
Arrêt depuis 2 à 5 ans	611	17	3,98	1,63-9,76	<10 ⁻³	146	2	4,11	0,34-50,3	ns	82	2	1,19	0,11-12,4	ns
Arrêt depuis 6 à 10 ans	405	8	1,80	0,65-4,93	ns	84	1	2,40	0,13-44,9	ns	67	1	0,16	0,01-2,35	ns
Arrêt depuis plus de 11 ans	505	28	3,33	1,32-8,37	0,01	124	4	2,78	0,25-30,9	ns	78	9	0,96	0,15-6,23	ns
Jamais	6 089	27	1,71	0,68-4,29	ns	1 334	2	1,85	0,13-25,8	ns	655	3	1,52	0,24-9,51	ns
Age à la première utilisation ^d															
Jamais	6 089	27	1,00			1 334	2	1,00			655	3	1,00		
Avant 20 ans	2 126	34	1,36	0,61-3,02	ns	556	4	1,02	0,13-7,98	ns	298	8	0,44	0,10-1,98	ns
Entre 20 et 25 ans	835	18	1,25	0,49-3,16	ns	170	4	3,29	0,36-29,7	ns	76	3	0,32	0,04-2,63	ns
Après 25 ans	395	12	1,84	0,71-4,73	ns	114	0				77	4	1,57	0,52-4,76	ns

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur le nombre de GMT et le statut ménopausique

Tableau 46 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'allaitement en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène *BRCA1*

	En dehors de LR1 (16 690 personne-années)					LR1 (5 367 personne-années)				
	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Allaitement ^d										
Jamais	2 391	63	1,00			751	16	1,00		
Oui	3 070	79	0,86	0,58-1,27	ns	1 138	18	0,73	0,32-1,66	ns
Nullipare	10 807	21	0,23	0,10-0,57	<10 ⁻³	3 369	9	2,96	1,13-7,76	0,03
Durée cumulée d'allaitement ^d										
Jamais	2 391	63	1,00			751	16	1,00		
] 0-5] mois	1 968	51	0,82	0,53-1,29	ns	736	9	0,56	0,21-1,51	ns
] 5-10] mois	782	24	1,16	0,71-1,89	ns	231	5	1,03	0,30-3,55	ns
≥10 mois	320	4	0,37	0,13-1,09	0,07	171	4	1,01	0,33-3,12	ns
Nullipare	10 807	21	0,23	0,10-0,56	<10 ⁻³	3 369	9	2,95	1,12-7,76	0,03
Durée cumulée d'allaitement ^d										
moins de 10 mois	5 141	138	1,00			1 718	30	1,00		
Plus de 10 mois	320	4	0,39	0,14-1,10	0,07	171	4	1,26	0,45-3,55	ns
Nullipare	10 807	21	0,24	0,10-0,56	<10 ⁻³	3 369	9	3,70	1,57-8,70	<10 ⁻³

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur le nombre de GMT, le statut ménopausique et la contraception

Tableau 47 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'allaitement en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène *BRCA2*

	En dehors de LR2 et HR2 (10075 personne-années)					LR2 (2281 personne-années)					HR2 (1137 personne-années)				
	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Allaitement ^d															
Jamais	1 260	27	1,00			530	6	1,00			149	6	1,00		
oui	2 267	55	1,08	0,55-2,14	ns	345	5	1,71	0,40-7,23	ns	214	7	0,55	0,08-3,92	ns
Nullipare	6 334	15	1,08	0,24-4,96	ns	1 395	0				748	5	2,30	0,35-15,2	ns
Durée cumulée d'allaitement ^d															
Jamais	1 260	27	1,00			530	6	1,00			149	6	1,00		
]0-5] mois	1 383	34	1,12	0,55-2,26	ns	267	3	1,23	0,24-6,38	ns	130	5	0,70	0,08-6,49	ns
]5-10] mois	501	15	1,37	0,55-3,43	ns	43	1	2,57	0,18-36,2	ns	46	1	0,28	0,02-4,48	ns
≥10 mois	383	6	0,49	0,15-1,63	ns	35	1	11,8	3,00-46,6	<10 ⁻³	38	1	0,58	0,04-8,80	ns
nullipare	6 334	15	1,05	0,23-4,89	ns	1 395	0				748	5	2,30	0,35-15,3	ns
Durée cumulée d'allaitement ^d															
moins de 10 mois	3 144	76	1,00			840	10	1,00			325	12	1,00		
plus de 10 mois	383	6	0,43	0,15-1,25	ns	35	1	10,5	3,01-36,9	<10 ⁻³	38	1	0,86	0,09-8,70	ns
nullipare	6 334	15	0,94	0,21-4,09	ns	1 395	0				748	5	3,30	0,78-14,0	ns

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur le nombre de GMT, le statut ménopausique et la contraception

Tableau 48 : Variation du risque de cancer du sein associé aux grossesses interrompues en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène *BRCA1*

	En dehors de LR1 (16 690 personne-années)					LR1 (5 367 personne-années)				
	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Grossesses interrompues ^d										
Aucune	14 247	92	1,00			4 419	23	1,00		
Au moins une	2 404	73	1,43	0,98-2,07	0,06	948	20	0,95	0,47-1,96	ns
Nb de grossesses interrompues ^d										
Aucune	14 247	92	1,00			4 419	23	1,00		
1 et 2	2 254	66	1,36	0,93-2,00	0,11	820	16	0,82	0,39-1,73	ns
3 et +	150	7	2,59	1,24-5,40	0,01	128	4	2,05	0,48-8,76	ns
Type et durée des grossesses interrompues ^e										
Aucune	14 204	92	1,00			4 419	23	1,00		
Interruptions induites uniquement	1 279	40	1,49	0,95-2,36	0,08	431	5	0,65	0,21-2,00	ns
Interruption spontanée à ≤3 mois	924	28	1,33	0,79-2,26	ns	428	13	1,25	0,56-2,81	ns
Interruption spontanée à >3 mois	153	4	1,12	0,35-3,59	ns	46	2	1,52	0,18-12,5	ns
Score TMAP (n'inclue pas les femmes nullipares) ^f										
]0-0.35]	2 832	57	1,00			969	16	1,00		
]0.35-0.45]	2 119	66	1,04	0,69-1,58	ns	678	13	0,74	0,31-1,78	ns
]0.45-1.00]	707	17	1,48	0,79-2,78	ns	316	7	1,94	0,65-5,79	ns

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur le nombre de GMT, le statut ménopausique et la contraception

e: ajusté sur le nombre de GMT, le nombre de grossesses interrompues le statut ménopausique et la contraception

f: ajusté sur le statut ménopausique et la contraception

Tableau 49 : Variation du risque de cancer du sein associé aux grossesses interrompues en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène *BRCA2*

	En dehors de LR2 et HR2 (10 075 personne-années)					LR2 (2 281 personne-années)					HR2 (1 137 personne-années)				
	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Grossesses interrompues ^d															
Aucune	8 378	63	1,00			1 775	4	1,00			926	11	1,00		
Au moins une	1 514	36	0,99	0,54-1,81	ns	445	6	2,29	0,49-10	ns	192	8	0,40	0,09-1,73	ns
Nb de grossesses interrompues ^d															
Aucune	8 378	63	1,00			1 775	4	1,00			926	11	1,00		
1 et 2	1 422	31	0,87	0,47-1,62	ns	378	4	1,85	0,35-9,72	ns	180	7	0,35	0,08-1,58	ns
3 et +	92	5	3,67	1,04-13,0	0,04	67	2	4,74	0,3-74,86	ns	12	1	3,09	1,14-8,39	0,03
Type et durée des grossesses interrompues ^e															
Aucune	8 378	63	1,00			1 775	4	1,00			926	11	1,00		
Interruptions induites uniquement	704	15	0,87	0,39-1,93	ns	185	3	3,90	0,59-25,6	ns	37	2	1,05	0,23-4,9	ns
Interruption spontanée à ≤3 mois	665	20	1,34	0,59-3,05	ns	188	3	2,18	0,35-13	ns	133	5	0,28	0,05-1,61	ns
Interruption spontanée à >3 mois	88	0				72	0				22	1	1,00	0,35-2,83	ns
Score TMAP (chez les femmes paires) ^f															
]0-0,35]	2 012	42	1,00			375	4	1,00			149	5	1,00		
]0,35-0,45]	1 276	37	1,12	0,62-2,03	ns	375	3	0,62	0,11-3,44	ns	159	7	0,66	0,09-4,98	ns
]0,45-1,00]	423	8	1,32	0,46-3,77	ns	72	2	7,40	1,14-48,2	0,04	60	3	2,91	0,58-14,5	ns

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur le nombre de GMT, le statut ménopausique et la contraception

e: ajusté sur le nombre de GMT, le nombre de grossesses interrompues le statut ménopausique et la contraception

f: ajusté sur le statut ménopausique et la contraception

Tableau 50 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'utilisation de traitements hormonaux substitutifs en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène *BRCA1*

	En dehors de LR1 (16 690 personne-années)					LR1 (5 367 personne-années)				
	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Traitements hormonaux substitutifs ^d										
Jamais	278	18	1,00							
Actuellement	130	8	1,12	0,44-2,85	ns					
Passée	29	1	0,78	0,06-9,56	ns					
Durée cumulée d'utilisation ^d										
Jamais	278	18	1,00							
<5ans	95	4	0,55	0,16-1,85	ns	Aucun cas utilisant ce type de traitement				
>5 ans	64	5	2,22	0,85-5,85	ns					
Temps depuis dernière utilisation ^d										
Depuis moins d'1 an	210	10	1,00							
Depuis 2 à 5 ans	23	1	1,11	0,07-17,0	ns					
Depuis plus de 5 ans	26	0								

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur le nombre de GMT et l'indice de masse corporelle

Tableau 51 : Variation du risque de cancer du sein associé à l'utilisation de traitements hormonaux substitutifs en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène *BRCA2*

	En dehors de LR2 et HR2 (10 075 personne-années)					LR2 (2 281 personne-années)					HR2 (1 137 personne-années)				
	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Traitements hormonaux substitutifs ^d															
Jamais	268	13	1,00								23	2	1,00		
Actuellement	140	5	0,70	0,23-2,16	ns						1	1			
Passée	22	2	1,51	0,23-9,71	ns						1 041	15	5,90	1,17-29,9	0,03
Durée cumulée d'utilisation ^d															
Jamais	268	13	1,00			Aucun cas ménopausée					23	2	1,00		
<5ans	86	3	0,46	0,11-1,90	ns						1	1			
>5 ans	76	4	1,14	0,32-4,04	ns						0	0			
Temps depuis dernière utilisation ^d															
Depuis moins d'1 an	176	7	1,00								6	2	1,00		
Depuis 2 à 5 ans	16	1	1,59	0,12-20,7	ns						0	0			
Depuis plus de 5 ans	6	1	9,56	0,29-313	ns						0	0			

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur le nombre de GMT et l'indice de masse corporelle

La diminution du risque de cancer du sein associée aux grossesses menées à terme observée chez les porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* est mise en évidence seulement chez les femmes dont la mutation se situe dans la région LR1 ($p_{\text{interaction}} < 10^{-3}$) (cf. Tableau 52). En effet, si chez les porteuses d'une mutation située dans la région LR1 on observe une diminution du risque d'environ 70% (une GMT et plus *versus* aucune : HR=0,27 [IC95%=0,13-0,55]), l'estimation ponctuelle du risque des porteuses d'une mutation située en dehors de la région LR1 est supérieure à 1 (une GMT et plus *versus* aucune : HR=1,42 [IC95%=0,77-2,42]). Les tests d'interaction sont significatifs pour l'ensemble des variables relatives aux grossesses menées à terme. En effet, le risque associé au nombre de grossesses ne diminue que chez les femmes dont la mutation se situe dans la région LR1 (1-2 GMT *versus* 0 : HR=0,32 [IC95%=0,15-0,68] et ≥ 3 GMT *versus* 0 : HR=0,20 [IC95%=0,08-0,49]). Contrairement à ce qui est observé sur l'ensemble des femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1*, la diminution du risque de cancer associée aux grossesses menées à terme est significative quelque soit l'âge atteint (≥ 1 GMT *versus* 0 : HR=0,33 [IC95%=0,16-0,68] avant 40 ans et HR=0,21 [IC95%=0,09-0,51] après 40 ans).

La variation du risque associé à la parité en fonction de la localisation des mutations dans le gène *BRCA2* n'a pas pu être étudiée pour la zone LR2 du fait de l'absence de cas chez les femmes nullipares (cf. Tableau 53). En outre, le risque associé à la parité ne varie pas en fonction de la localisation des mutations dans les deux autres régions de *BRCA2*.

Tableau 52 : Variation du risque de cancer du sein associé aux grossesses menées à terme en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène *BRCA1*

	En dehors de LR1 (16 690 personne-années)					LR1 (5 367 personne-années)				
	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
GMT ^d										
Nullipare	10 911	21	1,00			3 378	9	1,00		
Au moins une	5 779	145	1,42	0,77-2,63	ns	1 989	34	0,27	0,13-0,55	<10 ⁻³
Nombre de GMT ^d										
Nullipare	10 911	21	1,00			3 378	9	1,00		
1 et 2	4 218	108	1,63	0,88-3,05	ns	1 354	23	0,32	0,15-0,68	<10 ⁻³
≥3	1 546	36	0,96	0,48-1,94	ns	635	11	0,20	0,08-0,49	<10 ⁻³
Nombre de GMT en fonction de l'âge atteint ^e										
Nullipare	10 911	21	1,00			3 378	9	1,00		
≥1 avant 40 ans	4 325	81	1,36	0,72-2,56	ns	1 501	23	0,33	0,16-0,68	<10 ⁻³
≥1 après 40 ans	1 439	63	1,49	0,70-3,19	ns	488	11	0,21	0,09-0,51	<10 ⁻³

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur, le statut ménopausique et la contraception

e: ajusté sur le nombre de GMT, le statut ménopausique et la contraception

Tableau 53 : Variation du risque de cancer du sein associé aux grossesses menées à terme en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène *BRCA2*

	En dehors de LR2 et HR2 (10 075 personne-années)					LR2 (2 281 personne-années)					HR2 (1 137 personne-années)				
	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
GMT ^d															
Nullipare	6 334	15	1,00								748	5	1,00		
Au moins une	3 640	86	0,80	0,36-1,75	ns						370	14	0,24	0,08-0,72	0,01
Nombre de GMT ^d															
Nullipare	6 334	15	1,00								748	5	1,00		
1 et 2	2 522	60	0,91	0,41-2,01	ns	Absence de témoin pare					256	9	0,30	0,09-1,05	0,06
≥3	1 118	26	0,59	0,24-1,47	ns						114	5	0,18	0,04-0,84	0,03
Nombre de GMT en fonction de l'âge atteint ^d															
Nullipare	6 334	15	1,00								748	5	1,00		
≥1 avant 40 ans	2 574	39	0,78	0,34-1,75	ns						292	8	0,23	0,07-0,77	0,02
≥1 après 40 ans	1 066	47	0,84	0,30-2,32	ns						78	6	0,25	0,07-0,97	0,05

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur, le statut ménopausique et la contraception

e: ajusté sur le nombre de GMT, le statut ménopausique et la contraception

De même que pour la parité, les résultats suggèrent un effet différent de la ménopause sur le risque de cancer du sein en fonction de la localisation des mutations dans le gène *BRCA1* (cf. Tableau 54). Les résultats des analyses portant sur les facteurs relatifs à la ménopause sont semblables à ceux observés sur l'ensemble des femmes portant une mutation dans le gène *BRCA1*, seulement pour celles dont la mutation se situe en dehors de LR1. En effet, on peut noter que chez les femmes dont la mutation se situe en dehors de LR1, on observe une augmentation du risque de cancer associé à la ménopause (ménopausée *versus* non ménopausée : HR=2,15 [IC95%=1,30-3,55]), tandis que chez celles dont la mutation se situe dans la région LR1, la ménopause semble diminuer le risque (ménopausée *versus* non ménopausée : HR=0,47 [IC95%=0,16-1,39] ; $p_{\text{interaction}}=0,04$). Il faut tout de même noter que la région LR1 comporte peu de sujets (5367 personne-années) et la décomposition en classe aboutit très vite à des effectifs extrêmement petits.

Le risque associé à la ménopause semble également varier en fonction de la localisation des mutations dans le gène *BRCA2* (cf. Tableau 54). En effet, les femmes ménopausées n'ont un risque augmenté que lorsqu'elles sont porteuses d'une mutation dans la région HR2 (ménopausée *versus* non ménopausée : HR=4,01 [IC95%=1,21-13,2]) et non en dehors (ménopausée *versus* non ménopausée : HR=0,81 [IC95%=0,36-1,81]). Cependant, l'analyse portant sur les facteurs relatifs à la ménopause n'a pas pu être effectuée dans la région LR2 du fait de l'absence de cas ménopausée. En effet, il est important de souligner que les effectifs sont très petits dans les régions LR2 (2281 personne-années) et HR2 (1137 personne-années).

Tableau 54 : Variation du risque de cancer du sein associé au statut ménopausique en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène *BRCA1*

	En dehors de LR1 (16 690 personne-années)					LR1 (5 367 personne-années)				
	Nb de personne -années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne -années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Statut ménopausique ^d										
Non-ménopausée	15 807	133	1,00			5 114	40	1,00		
Post-ménopause	437	27	2,15	1,30-3,55	<10 ⁻³	174	3	0,47	0,16-1,39	ns
Type de ménopause ^d										
Non-ménopausée	15 807	133	1,00			5 114	40	1,00		
Naturelle	312	22	2,97	1,67-5,29	<10 ⁻³	145	2	0,37	0,11-1,27	ns
Artificielle	125	5	1,11	0,42-2,89	ns	29	1	1,18	0,21-6,74	ns
Age à la ménopause naturelle ^d										
Non-ménopausée	15 807	133	1,00			5 114	40	1,00		
Avant 50 ans	121	8	2,07	0,96-4,49	0,07	72	0			
Après 50 ans	191	14	5,31	2,08-13,6	<10 ⁻³	73	2	0,77	0,24-2,52	ns
Nombre d'années depuis la ménopause naturelle ^d										
Non-ménopausée	15 807	133	1,00			5 114	40	1,00		
<5 ans	150	13	2,81	1,39-5,68	<10 ⁻³	60	1	0,28	0,04-2,24	ns
5-9 ans	90	4	3,20	1,07-9,62	0,04	33	0			
>9 ans	72	5	3,36	0,75-15,0	ns	52	1	0,67	0,14-3,27	ns

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur le nombre de GMT, traitements hormonaux substitutifs et l'indice de masse corporelle

Tableau 55 : Variation du risque de cancer du sein associé au statut ménopausique en fonction de la localisation des mutations tronquantes dans le gène *BRCA2*

	En dehors de LR2 et HR2 (10 075 personne-années)					LR2 (2 281 personne-années)					HR2 (1 137 personne-années)				
	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value	Nb de personne- années ^c	Nb de cas ^c	HR ^a	IC95% ^b	p-value
Statut ménopausique ^d															
Non ménopausée	9 391	81	1,00								1 041	15	1,00		
Post-ménopause	437	20	0,81	0,36-1,81	ns						24	3	4,01	1,21-13,2	0,02
Type de ménopause															
Pré-ménopause	9 391	81	1,00								1 041	15	1,00		
Naturelle	336	17	0,87	0,35-2,11	ns						21	3	4,01	1,21-13,2	0,02
Artificielle	101	3	0,64	0,14-2,95	ns						3	0			
Age à la ménopause naturelle ^d															
Non ménopausée	9 391	81	1,00			Absence de cas ménopausée					1 041	15	1,00		
Avant 50 ans	139	5	0,61	0,20-1,92	ns						19	3	5,12	1,60-16,3	0,01
Après 50 ans	197	12	1,45	0,43-4,86	ns						2	0			
Nombre d'années depuis la ménopause naturelle ^d															
Non ménopausée	9 391	81	1,00								1 041	15	1,00		
<5 ans	118	6	0,66	0,22-1,97	ns						11	1	2,52	0,17-36,7	ns
5-9 ans	95	3	0,63	0,14-2,91	ns						6	1	5,57	1,12-27,7	0,04
>9 ans	123	8	1,49	0,49-4,50	ns						4	1	5,23	1,63-16,8	0,01

a: HR=hazard ratio

b: IC95% = intervalle de confiance à 95%

c : les données manquantes ne figurent pas dans ce tableau

d: ajusté sur le nombre de GMT, traitements hormonaux substitutifs et l'indice de masse corporelle

Chapitre IV : Discussion

I. Rappel des résultats les plus importants

L'analyse des facteurs potentiels de risque gynéco-obstétrique et de style de vie m'a permis de mettre en évidence dans la population à risque génétique élevé que sont les femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2*, une augmentation du risque de cancer du sein associée à l'exposition thoracique aux rayons X, à la consommation de tabac, à un IMC inférieur à la normale, à un âge précoce aux premières règles, à la nulliparité, aux interruptions de grossesse, à un arrêt de la contraception orale, à la ménopause et à l'utilisation de traitements hormonaux substitutifs pendant plus de 5 ans.

Cette étude confirme l'existence d'une zone centrale à moindre risque de cancer du sein dans les gènes *BRCA1* (région LR1 : codons 374 à 1161) et *BRCA2* (région LR2 : codons 957 à 1827) et a permis de décrire une nouvelle région à haut risque située dans la région 3' du gène *BRCA2* (région HR2 : codon 2546 à 2968).

L'étude des facteurs de risque relatifs à la vie gynéco-obstétrique et au style de vie en fonction de la localisation des mutations dans les régions homogènes montre une variation du risque associé à la parité et à la ménopause en fonction de la localisation des mutations dans le gène *BRCA1*. Le risque associé à la ménopause varie également en fonction de la localisation des mutations dans le gène *BRCA2*.

II. Limites

Tout d'abord, ces analyses sont basées sur des données rétrospectives issues de femmes ayant choisi de connaître leur statut génétique vis-à-vis des gènes *BRCA1* et *BRCA2*. Une hypothèse sous-jacente à l'utilisation du modèle de Cox pondéré utilisé dans cette étude est que l'accès au diagnostic génétique soit indépendant des variables étudiées [175]. Cette méthode serait biaisée si par exemple se rendre à une consultation d'oncogénétique était corrélé au fait d'avoir des enfants. Il a été observé dans plusieurs études incluant cas et témoins que les femmes ayant des enfants étaient plus enclin à accéder aux tests génétiques que les femmes nullipares [266,293]. On ne connaît pas l'amplitude de ce biais. Cependant, si « participer à l'étude » était associé à une parité élevée, la différence du nombre d'enfants entre les cas et les témoins serait alors diminuée et conduirait à des estimations ponctuelles du risque biaisées vers l'hypothèse nulle. De plus, si la parité est en effet associée à une diminution du risque de cancer chez les porteuses d'une mutation, les femmes testées ayant de nombreux enfants auraient un risque de cancer du sein inférieur à celui utilisé pour calculer les poids attribués à chaque femme. De ce fait, les poids assignés aux femmes affectées par un cancer du sein

seraient bien inférieurs à ce qu'ils devraient être et diminueraient d'autant la contribution des cas aux estimations des risques. Ainsi les associations potentielles entre les facteurs étudiés et le cancer du sein ne seraient pas sur-estimées, mais au contraire, sous-estimées. Antoniou *et al.* [175] illustrent ce phénomène par des simulations publiées en 2005. Ce type de biais pourrait également être retrouvé si les témoins ayant des enfants étaient plus enclins à accéder aux tests génétiques que les cas nullipares et si les cas étaient plus enclins à accéder aux tests génétiques que les témoins du fait même de leur cancer. Cependant, à ma connaissance, aucune étude n'a été réalisée sur le sujet, et aucune donnée n'est actuellement disponible.

Les données que j'ai utilisées étant issues de la partie rétrospective de la cohorte GENEPSO, un biais de survie ne peut être exclu. En effet, certains cas prévalents ont été interviewés jusqu'à 34 ans après leur cancer. Ainsi, il n'est pas exclu que les risques associés à certains facteurs de mauvais pronostic soient sous-estimés. Par exemple, l'interaction négative entre la consommation de tabac et d'alcool qui est observée dans la cohorte GENEPSO pourrait être due à un biais de survie ; les cas consommant à la fois tabac et alcool ayant un mauvais pronostic seraient sous-représentés dans GENEPSO (voir paragraphe III/A/2 de ce même chapitre). Pour étudier ce biais, j'ai effectué l'analyse des facteurs de risque sur une cohorte pseudo-incidente, c'est-à-dire en ne prenant en compte que les cinq années précédant l'interview. En effet, la survie relative 5 ans après le diagnostic est considérée comme étant relativement bonne (supérieure à 90%) [15]. Les résultats de ces analyses sont semblables à ceux obtenus sur l'ensemble de la cohorte « une femme par famille », et suggèrent donc l'absence d'un tel biais y compris en ce qui concerne l'interaction entre le tabac et l'alcool.

Par ailleurs, le choix des incidences calculées par Antoniou *et al.* pour calculer les poids attribués aux femmes de la cohorte GENEPSO peut être discuté. En effet, il se peut que la population de la cohorte GENEPSO diffère de la population étudiée par Antoniou *et al.* [175]. Cependant, des tests de sensibilité effectués en 2005 par Antoniou *et al.* [175] montrent que le biais induit par l'utilisation de « mauvais » taux d'incidence est relativement faible, et toujours plus faible que le biais induit par l'utilisation d'un modèle de Cox non pondéré.

Il est également important de noter que cette étude a été menée sur un nombre restreint de sujets. La puissance est d'autant plus limitée pour les analyses stratifiées ou en sous-groupe que l'on aboutit très rapidement à des effectifs très petits. Cependant, cette étude est une étude exploratoire. Les observations devront être répliquées et vérifiées sur des populations plus grandes.

III. Résultats

A. Facteurs non génétiques

1. Exposition thoracique aux rayons X

D'après nos résultats, le risque de cancer associé à l'exposition thoracique aux rayons X serait 3 fois plus élevé chez les femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2* que chez les femmes de la population générale. En effet, pour les femmes de moins de 50 ans ayant eu au moins neuf expositions thoraciques aux rayons X, Ma *et al.* [294] trouvent un $HR=2,1$. Par ailleurs les résultats portant sur l'effet des expositions thoraciques aux rayons X sont concordants avec ceux trouvés dans la littérature chez les femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2*, à savoir une forte augmentation du risque [172,258,262]. Bien que 319 femmes de la cohorte GENEPSO fassent également partie de l'étude IBCCS, les résultats montrent une augmentation du risque de cancer associée à l'exposition thoracique aux rayons X, 2,5 fois plus grande que celle mise en évidence par le groupe IBCCS [172]. Cette différence pourrait être due au fait que les femmes de la cohorte GENEPSO ont été plus souvent exposées aux rayons X que l'ensemble des femmes de la cohorte internationale IBCCS (au moins une période avec 5 expositions : 57% des femmes de GENEPSO *versus* 45% pour IBCCS). Il semblerait que les femmes de la cohorte GENEPSO soient également exposées plus souvent avant l'âge de 20 ans que celles de la cohorte IBCCS (81% et 59% respectivement). Très récemment, l'étude européenne GENE-RAD-RISK portant sur le risque de cancer du sein associé aux radiations thoraciques médicales chez des porteurs d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2* a été publiée [262]. Cette étude regroupe plusieurs cohortes dont GENEPSO (716 femmes incluses entre 2006 et 2009¹). Elle dispose des âges aux expositions et des différents niveaux d'exposition détaillés, et montre ainsi que même pour de très faibles niveaux d'exposition avant 30 ans, le risque de cancer du sein augmente significativement. Ce risque est multiplié par environ 4 pour les femmes ayant reçu plus de 0,0174 Gray². Or, ce risque correspond à ce que l'on observe dans la cohorte GENEPSO chez les femmes ayant été exposées au moins une fois. Il faut cependant noter que le questionnaire de GENEPSO ne permet pas de savoir si les expositions aux radiations après 20 ans ont eu lieu avant ou après la censure, ce qui peut avoir engendré une sur-estimation du risque. En effet, il se peut que du fait de leur cancer, les cas aient subi plus de radios thoraciques dans le but de surveiller l'apparition de cancers secondaires touchant d'autres

¹ Nous ne sommes pas en mesure d'évaluer l'exacte « overlapping » entre les femmes de la cohorte et celles de GENE RAD RISK puisque les données ont été au préalable anonymisées.

² On estime qu'une radiographie équivaut à 0,0005 Gray. 0,0174 équivaut ainsi à 35 radiographies

organes tels que les poumons. Plus de détails concernant l'âge aux différentes expositions et le nombre d'expositions seraient nécessaires pour étudier cette population française de porteurs d'une mutation, qui semble particulièrement exposée. En effet, cette importante augmentation du risque de cancer du sein associée aux expositions thoraciques aux rayons X chez ces femmes à haut risque pourrait être prise en compte dans l'établissement de futures recommandations visant à éviter les examens radiologiques (autres que mammographies) non nécessaires, et de si possible préférer un autre type d'examen.

2. Consommation de tabac et d'alcool

Dans la cohorte GENEPSO, on observe une interaction négative entre le tabac et l'alcool, raison pour laquelle l'analyse de l'effet du tabac sur le cancer du sein a été stratifiée sur la consommation d'alcool (et *vice versa*). En effet, il semble que les fumeuses consommant de l'alcool aient un risque de cancer inférieur à celui des fumeuses ne consommant pas d'alcool. Le tabagisme et l'alcool sont tout deux des facteurs associés à un mauvais pronostic aboutissant à une sous-représentation des cas ayant fumé ou ayant consommé de l'alcool [250-254]. On peut supposer que cette sous-représentation est d'autant plus importante pour les cas ayant fumé et consommé de l'alcool. Cette sous-représentation pourrait être à l'origine de l'interaction entre le tabac et l'alcool observée dans nos résultats. Les analyses effectuées sur la cohorte pseudo-incidente ne permettent cependant pas de confirmer cette hypothèse puisque les estimations de risque ne semblent pas différer de celles obtenues à partir de la cohorte « une femme par famille ».

Contrairement à ce qui est observé en population générale, où aucune association entre la consommation de tabac et le cancer du sein n'est retrouvée (exemple : [73]), nos résultats montrent une augmentation d'un facteur 2 du risque de cancer du sein associée au tabagisme. Au moins six études menées sur les porteurs d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2* ont étudié le risque de cancer du sein associé à la consommation de tabac et ont décrit différents résultats. En effet, certaines études ne reportent aucune association [225,242,245], deux un effet protecteur [246,247] et deux une association positive [248,249] ; l'une d'elle ne mettant en évidence cette association que chez les *BRCA1*. Il s'avère que les études ayant abouti à des effets protecteurs [246,247] ou pas d'effet [225,242,245] présentent de longs délais entre le diagnostic et l'interview alors que celles trouvant une augmentation du risque associée au tabac [248,249] présentent des délais plus courts. Compte tenu du mauvais pronostic associé au tabagisme, lorsque le délai entre le diagnostic et l'interview est long, la probabilité que les cas fumeurs survivent est plus faible que celle des non fumeurs, aboutissant à une sous-représentation des cas fumeurs et donc à un effet protecteur « artéfactuel ». Bien qu'issus

d'analyses menées sur des cas prévalents, les résultats obtenus sur la cohorte GENEPSO montrent une augmentation du risque de cancer du sein associée à une consommation « actuelle » de tabac. Cette augmentation est significative chez les fumeuses de plus de 21 paquets-année, mais le risque de cancer diminue cependant après 10 années d'arrêt. Du fait de l'importance des gènes *BRCA1* et *BRCA2* dans la réparation de l'ADN, on peut supposer que les porteurs d'une mutation de l'un de ces deux gènes sont plus sensibles que la population générale aux effets des carcinogènes contenus dans la fumée de cigarette.

Contrairement à ce qui est observé en population générale [73], mais conformément à ce qui est observé dans deux études préalablement menées chez les porteurs d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2* [255,256], les résultats ne montrent aucune association entre la consommation d'alcool et le cancer du sein. Cependant, le questionnaire ne permettant pas de connaître la consommation d'alcool avant le diagnostic du cancer du sein chez les cas, ce facteur n'a pu être étudié que pour la consommation vers l'âge de 20 ans.

3. Indice de masse corporelle

Dans la population générale, le surpoids est un facteur associé au risque de cancer du sein de façon différente en fonction du statut ménopausique : le surpoids diminue le risque de cancer du sein avant la ménopause et l'augmente après [66-68]. Le peu d'études qui ont été réalisées sur l'IMC dans la population des femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2* donnent des résultats divergents. Kotsopoulos *et al.* [241], qui ont étudié l'effet de la perte ou le gain de poids sur le risque de cancer chez les femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2*, ont mis en évidence une diminution du risque de cancer précoce (avant la ménopause) associée à une perte de poids et deux autres études trouvent une association positive entre le gain de poids et le risque de cancer chez les femmes ménopausées [243,295]. D'autres études, comme celle de Chang-Claude *et al.* [244], ne mettent en évidence aucune association entre l'IMC et le risque de cancer du sein. Contrairement à ce qui a été montré par ces études, nos résultats montrent une diminution du risque associé à un surpoids que ce soit avant ou après la ménopause. Cependant cette diminution n'est significative que chez les femmes non ménopausées. Cet effet protecteur du surpoids vis-à-vis du cancer du sein qui est un cancer hormonaux-dépendant pourrait être dû au fait que les femmes en surpoids ont, avant la ménopause, un plus faible nombre d'ovulations et une diminution du taux d'hormones sanguin [69].

4. Age aux premières règles et la ménopause

En population générale, de nombreuses études montrent qu'un âge aux premières règles précoce augmente le risque de cancer du sein [30,31].

Les trois études, dont j'ai connaissance, qui ont étudié ce facteur chez les femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2* trouvent des résultats extrêmement variables [224-227]. Seules deux d'entre elles ont mis en évidence une relation inverse entre l'âge aux premières règles et le risque de cancer du sein et ce, uniquement chez les porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* [224,225]. Nos résultats concordent avec ces deux dernières études, puisqu'on observe une diminution significative du risque de cancer du sein associée à un âge aux premières règles tardif (après 12 ans).

En population générale, un âge tardif à la ménopause est également un facteur de risque reconnu du cancer du sein [32]. Chang-Claude *et al.* [176] ont été les premiers à étudier l'effet de la ménopause sur le risque de cancer du sein chez les porteuses d'une mutation du gène *BRCA1/2* de la cohorte IBCCS. Ils n'ont pas mis en évidence de différence significative du risque en fonction de l'âge à la ménopause. En revanche, leurs résultats suggèrent un effet protecteur de la ménopause chez les porteuses d'une mutation du gène *BRCA2*. Nos résultats sur les porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* montrent une augmentation du risque de cancer du sein associée à la ménopause naturelle et plus particulièrement lorsque l'âge à la ménopause est supérieur à 50 ans. En revanche, chez les porteuses d'une mutation du gène *BRCA2*, nous montrons une diminution de l'estimation ponctuelle du risque de cancer du sein associée à la ménopause naturelle. Chang-Claude *et al.* [176] montrent que cette diminution intervient tout particulièrement pour les ménopauses par ovariectomie bilatérale prophylactique. Je n'ai cependant pas pu analyser ce type de ménopause du fait de l'absence de cas de cancer du sein ayant subi une ovariectomie bilatérale prophylactique.

Le cancer du sein étant un cancer hormonaux-dépendant, le fondement biologique de ces associations correspond à l'exposition précoce et prolongée à l'imprégnation hormonale qui existe durant la période d'activité des ovaires. Ainsi, plus les premières règles sont tardives et l'âge à la ménopause précoce, moins le risque de cancer devrait être élevé. Seuls nos résultats observés chez les femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA2* semblent concorder avec cette hypothèse.

5. Utilisation de traitements hormonaux substitutifs

En population générale, il est aujourd'hui admis que l'utilisation de traitements hormonaux substitutifs est associée à une augmentation du risque de cancer du sein [62,63,166].

Chez les femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2*, l'étude IBCCS a trouvé une association entre la prise d'un traitement hormonal substitutif pendant les 5 premières années suivant la ménopause et une augmentation du risque de cancer d'un facteur 2,78 (Brohet *et al.* – Hormone Replacement Therapy and risk of Breast Cancer in the International *BRCA1/2* Carrier Cohort Study - article soumis).

De façon similaire, nous trouvons une augmentation significative du risque de cancer du sein chez les femmes ayant utilisé un traitement hormonal substitutif pendant une durée cumulée de plus de 5 ans comparé aux femmes n'en ayant jamais utilisé mais uniquement chez les porteuses d'une mutation du gène *BRCA1*. Bien que nous n'ayons pas étudié la prise de traitement dans les cinq premières années suivant la ménopause comme l'ont fait Brohet *et al.*, nos résultats semblent cohérents avec ce qu'observent ces derniers. En effet, Brohet *et al.* trouvent une augmentation du risque pour une durée cumulée de 5 ans. Contrairement à ce que montrent nos résultats, Brohet *et al.* ne trouvent pas d'effet différentiel des traitements hormonaux substitutifs en fonction du gène muté (Brohet *et al.* – Hormone Replacement Therapy and risk of Breast Cancer in the International *BRCA1/2* Carrier Cohort Study - article soumis). Cet effet différentiel observé chez les femmes de la cohorte GENEPSO est cependant sujet à caution du fait des petits effectifs.

6. Grossesses menées à terme

A ma connaissance, sept études ont étudié l'impact de la parité sur le risque de cancer du sein chez des femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2*, et montrent des résultats différents [146,147,225,226,228,229,296].

Comme pour la population générale [32,44,48,297], nos résultats montrent une diminution du risque de cancer du sein chez les femmes ayant mené au moins une grossesse à terme, avec un effet protecteur maximal à partir de trois grossesses menées à terme. Ces résultats concordent avec quatre études récentes menées sur ce type de population [146,147,226,296]. Comme pour trois de ces quatre études, nos résultats montrent que l'effet protecteur des grossesses menées à terme est surtout notable chez les femmes de plus de 40 ans [146,147,296]. L'étude IBCCS rapporte un effet différentiel d'un âge précoce à la première grossesse selon le gène muté, à savoir, une augmentation du risque de cancer associé à un âge tardif à la première grossesse menée à terme (>30 ans) chez les porteuses d'une mutation du gène *BRCA2*, et une diminution du risque chez les femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* [147]. Bien que 319 femmes de la cohorte GENEPSO participent également à IBCCS (soit 24 % des femmes de la cohorte « entière »), l'effet inverse de l'âge à la première grossesse selon le gène muté n'est pas retrouvé dans la cohorte GENEPSO.

7. Interruptions de grossesses

En population générale, il a été supposé que les interruptions de grossesse (induites ou spontanées) pouvaient être associées à une augmentation du risque de cancer du sein [54,298-302]. Cette association reste cependant controversée. Parmi les trois études de ce type qui ont été menées sur la population des femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2*, les conclusions sont très variables [147,233,234]. En effet, deux études concluent que le risque de cancer du sein n'est pas associé aux interruptions de grossesses [147,233], et une étude plus récente a mis en évidence une diminution du risque de 64% chez les femmes *BRCA2* ayant subi plus de 2 interruptions thérapeutiques [234].

Les analyses menées sur les femmes de la cohorte GENEPSO donnent des résultats concordants avec une étude menée en 1995 par Andrieu *et al.* [303] qui montrait une augmentation du risque de cancer du sein associée aux interruptions de grossesse, mais seulement chez les femmes ayant des antécédents familiaux de cancer du sein. En effet, les résultats obtenus à partir de la cohorte GENEPSO montrent une augmentation du risque de cancer du sein associée aux interruptions de grossesse, cette augmentation étant maximale à partir de trois grossesses interrompues (tous types confondus). Dans un premier temps, il semblait que cette augmentation du risque n'était due qu'aux interruptions induites, et non aux fausses couches. Il s'avère en fait que la durée de ces grossesses interrompues est une donnée importante à prendre en compte. En effet, si les fausses couches, quelque soit la durée de la grossesse, ne semblaient pas avoir d'impact sur le risque de cancer du sein, celles intervenant au cours du premier trimestre de la grossesse sont associées à une augmentation de l'estimation ponctuelle du risque de cancer du sein. Le choix de la durée de trois mois a été motivé par le fait que les interruptions volontaires de grossesse (qui représentent la majeure partie des interruptions induites) ne sont autorisées qu'au cours du premier trimestre de la grossesse en France. Parmi les femmes ayant eu au moins une interruption de grossesse (tous types confondus) lors du premier trimestre de grossesse, celles dont la première interruption a eu lieu après 20 ans semblent avoir un risque inférieur que celle l'ayant eu avant 20 ans. Par ailleurs, l'augmentation du risque associée aux interruptions de grossesse au cours du premier trimestre, n'est proche de la significativité que pour celles ayant eu lieu avant la première grossesse menée à terme.

8. Score TMAP

Les effets des grossesses menées à terme et des grossesses interrompues au cours du premier trimestre sont opposés. En effet, les grossesses menées à terme ont un effet protecteur tandis que les grossesses interrompues au cours du 1er trimestre sont associées à une augmentation

du risque. Afin de prendre en compte simultanément ces effets opposés, j'ai créé le score TMAP dont l'augmentation a été trouvée associée à une augmentation du risque de cancer du sein. Le score TMAP reflète le temps cumulé relatif passé en premier trimestre de grossesse, au cours d'une vie. Quand ce score est supérieur à 0,50, le temps cumulé passé en premier trimestre de grossesse est supérieur ou égal au temps cumulé passé en deuxième et troisième trimestre de grossesse et le risque de cancer du sein associé est multiplié par deux (comparé à un score <0.35). Nous rappelons que Russo *et al.* ont montré que les trois premiers mois d'une grossesse sont une période d'activité mitotique intense des cellules mammaire et que les six derniers mois, celui d'une période de différenciation [304,305]. Les cellules mammaires de ces femmes au score TMAP supérieur à 0,50 ont donc été plus longtemps en période de mitose qu'en période de différenciation au cours de leur vie. L'effet délétère de ce déséquilibre pourrait être d'autant plus important chez les femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2* que ces deux gènes sont impliqués dans la réparation des lésions de l'ADN et dans le contrôle du cycle cellulaire.

D'autres approches ont été proposées dans la littérature et notamment par l'étude IBCCS pour tenter de résumer les facteurs impliqués dans les variations du risque de cancer associé à la vie reproductive comme la durée de la fenêtre œstrogénique [176]. La durée de la fenêtre œstrogénique représente le nombre d'années entre l'âge aux premières règles et l'âge à la ménopause moins les six derniers mois de chaque grossesse pour les raisons évoquées précédemment (la diminution de la division cellulaire et la différenciation des cellules). Cette approche n'a cependant pas abouti à la mise en évidence d'une association entre le risque de cancer du sein et la durée de la fenêtre œstrogénique [176].

Les variations du risque de cancer du sein associées au score TMAP sont importantes et doivent être confirmées. En effet, si nos résultats sont répliqués, ce score pourrait être utile pour ajuster le calcul de risque absolu individuel des femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2* dans les modèles de prédiction.

B. Localisation des mutations

A partir des données de la cohorte GENEPSO, nous avons confirmé l'existence de la région à moindre risque de cancer du sein dans le gène *BRCA1* observée par Thompson *et al.* [200]. A ma connaissance, 14 études ont mené des analyses sur la variation du risque de cancer en fonction de la localisation des mutations dans le gène *BRCA1* [103,194-205,306].

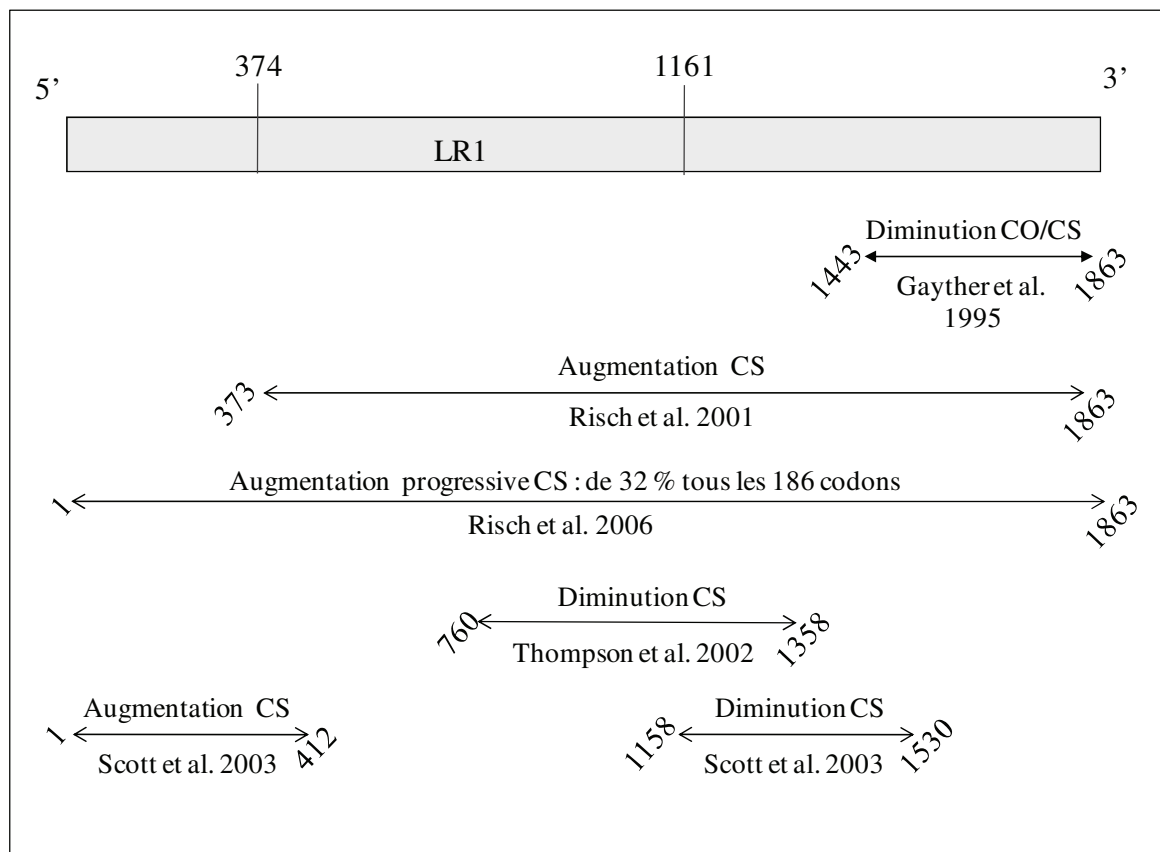


Figure 24 : Variation du risque de cancer du sein en fonction de la localisation des mutations dans le gène *BRCA1* dans la littérature et dans la cohorte GENEPSO

Les neuf études qui suggèrent une variation du risque en fonction de la localisation des mutations dans *BRCA1* trouvent des régions et des estimations des risques très différents (*cf.* Figure 24). La diversité des approches (gnostiques ou agnostiques) et des populations utilisées pour étudier la variation du risque de cancer du sein en fonction de la localisation des mutations peut en partie expliquer la variabilité des résultats entre les différentes études et l'étude ici présente. Les différents « design » et résultats obtenus par les études ayant trouvé une variation du risque en fonction de la localisation des mutations sont résumés Tableau 56 .

Contrairement à l'étude qui a fait l'objet de ma thèse, les études présentées ci-dessus sont toutes des analyses réalisées sur des données familiales. A l'exception de Thompson *et al.* [200], toutes ces études ont étudié le risque associé à la localisation des mutations en mélangeant toutes les mutations quelque soit leur type (tronquantes, faux sens, délétion totale du gène, *etc.*) [194,198,199,201]. Cette différence d'approche explique peut-être pourquoi nos résultats ne semblent concorder qu'avec ceux de Thompson *et al.* [200]. En effet, l'impact des mutations sur la fonctionnalité de la protéine dépend largement du type de la mutation.

Tableau 56 : Variation du risque de cancer du sein en fonction de la localisation des mutations dans le gène *BRCA1* dans la littérature

Études	Population d'étude	Nombre de mutations différentes	Risque étudié	Résultats obtenus
Gayther <i>et al.</i> 1995 [194]	32 familles à haut risque de cancer du sein ou de l'ovaire	22 mutations différentes tous types confondus (tronquantes, faux sens, <i>etc.</i>)	Le rapport : cancer de l'ovaire : cancer du sein mutation par mutation	Diminution de la proportion de cancer de l'ovaire en 3' du gène
Risch <i>et al.</i> 2001 [198]	39 Familles de cas de cancer de l'ovaire non apparentés	26 mutations différentes tous types confondus (tronquantes, faux sens, <i>etc.</i>)	Le risque de cancer du sein par tranche de 559 nucléotides (10% du nombre total de nucléotides) soit 186 nucléotides	Augmentation progressive de 26% tous les 186 codons additionnels (de 5' vers 3'). Cette augmentation du risque n'est cependant significative qu'à partir du 373 ^{ème} codon
Thompson <i>et al.</i> 2002 [200]	356 familles avec au moins un cas de cancer du sein porteur d'une mutation sur <i>BRCA1</i>	158 Mutations tronquantes différentes	Le risque de cancer du sein en fonction de la localisation des mutations dans trois régions optimisant la déviance	Diminution du risque entre les codons 760 et 1358.
Scott <i>et al.</i> 2003 [201]	28 familles à haut risque de cancer du sein ou de l'ovaire dont au moins deux membres sont porteurs d'une mutation sur <i>BRCA1</i>	26 mutations différentes tous types confondus (tronquantes, faux sens, <i>etc.</i>).	Le risque de cancer du sein en fonction de la localisation des mutations suivant le découpage du gène utilisé par Risch <i>et al.</i> en 2001	Augmentation du risque de cancer associé aux mutations situées entre les codons 1 et 412. Diminution du risque de cancer associé aux mutations situées entre les codons 1158 et 1530.
Risch <i>et al.</i> 2006 [199]	75 Familles de cas de cancer de l'ovaire non apparentés	40 mutations différentes tous types confondus (tronquantes, faux sens, <i>etc.</i>)	Le risque de cancer du sein par tranche de 559 nucléotides (10% du nombre total de nucléotides) soit 186 nucléotides	Augmentation progressive de 26% tous les 186 codons additionnels (de 5' vers 3')

Contrairement aux études portant sur le gène *BRCA1*, celles portant sur le gène *BRCA2* ont testé directement l'hypothèse de Gayther *et al.* [207] et n'ont pas recherché de nouvelles régions. On peut supposer que c'est en partie pour cette raison que ces études montrent des résultats beaucoup plus homogènes que celles réalisées sur le gène *BRCA1*. Ainsi, les cinq études ayant utilisé les bornes prédéfinies par Gayther *et al.* [207] en 1997 et correspondant aux extrémités de l'exon 11 [103,148,198,199,205,208] trouvent à l'instar de Gayther *et al.* une diminution du risque de cancer du sein dans la région centrale de *BRCA2*. Bien que nous ayons procédé sans *a priori*, c'est-à-dire sans utiliser les bornes définies par Gayther *et al.* [207], pour étudier la variation du risque de cancer en fonction de la localisation des mutations, nous trouvons une région centrale à moindre risque de cancer du sein, (LR2) similaire à celle mise en évidence par Gayther *et al.* [207] (*cf.* Figure 25).

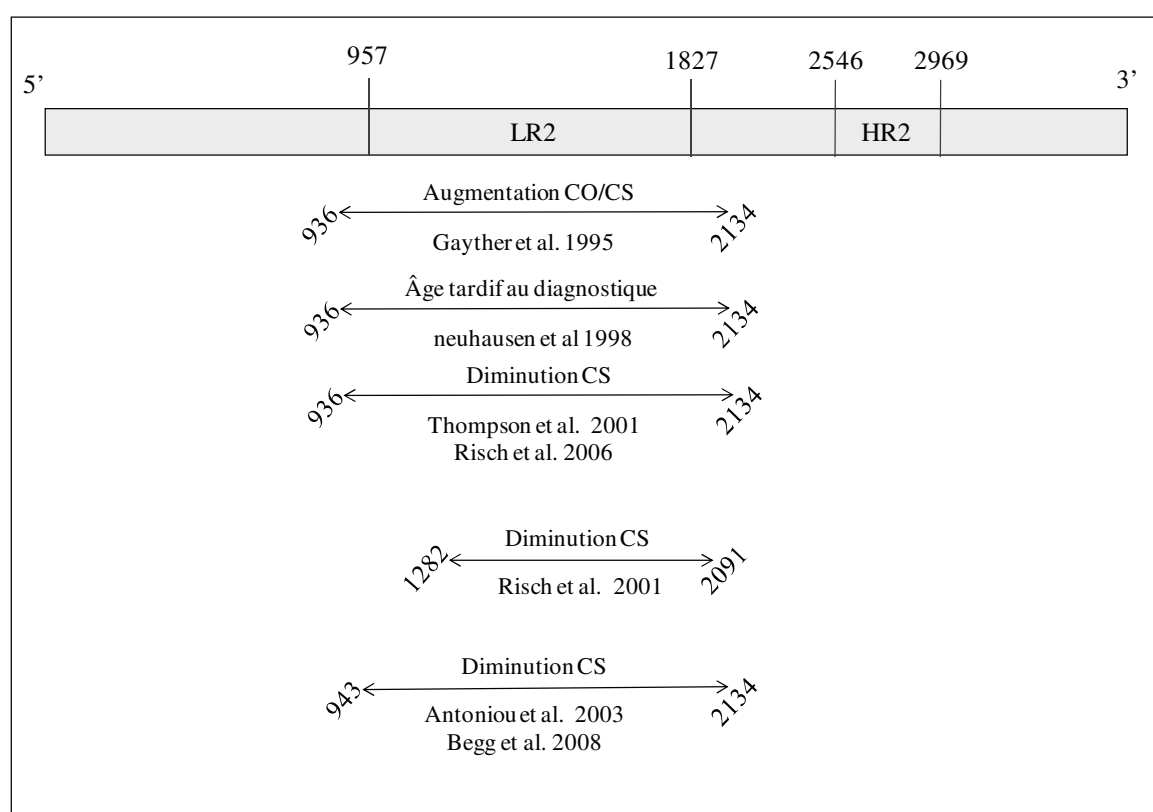


Figure 25 : Variation du risque de cancer du sein en fonction de la localisation des mutations dans le gène *BRCA2* dans la littérature et dans la cohorte GENEPSO

La diminution du risque de cancer du sein observée dans la région centrale des gènes *BRCA1* et *BRCA2* pourrait être due au phénomène NMD qui serait activé par les mutations tronquantes localisées dans cette région. En effet, la présence d'une protéine en partie aberrante et tronquée peut avoir un effet plus délétère qu'une diminution de moitié de la

quantité de protéine produite¹. Ce phénomène est appelé dominance négative. Par exemple, si l'une des fonctions de la protéine d'intérêt est d'agir sur une autre protéine après s'y être fixée, une protéine en partie aberrante qui a conservé sa capacité de fixation, mais pas sa capacité d'action, va occuper une partie des sites de fixation, sans pouvoir cependant assumer l'intégralité de son rôle. Ainsi, elle empêche la protéine fonctionnelle d'accéder à ces sites de fixation et va donc amoindrir sa fonctionnalité. Il s'instaure donc une compétition entre la protéine fonctionnelle et la protéine tronquée qui se révèle plus délétère que l'absence de protéine tronquée, compétition empêchée par le phénomène NMD en détruisant l'ARN messager portant un codon stop prématuré. Il serait donc envisageable que les mutations tronquantes situées dans les régions LR1 et LR2, contrairement aux autres mutations, permettent de déclencher le phénomène NMD, et n'aboutissent pas à la fabrication d'une protéine aberrante et tronquée.

J'ai également pu mettre en évidence une région à haut risque de cancer du sein, la région HR2 comprise entre les codons 2546 et 2969. A ma connaissance, c'est la première fois que cette région a été décrite. Cette région correspond à la région conservée la plus longue [307], qui est également le site d'interaction protéine-protéine entre *BRCA2* et la protéine DSS1 (pour « deleted in split hand/split foot protein1 ») [308] (*cf.* Figure 26). Par le biais de cette interaction protéine-protéine, DSS1 semble avoir une importance cruciale pour la stabilité de la protéine *BRCA2* et pour sa fonction de réparation des cassures double brin d'ADN [308]. La fonction de DSS1 dans cette interaction avec *BRCA2* reste cependant obscure. Il a tout de même été postulé que DSS1 régule l'accessibilité des sites de liaison à l'ADN de *BRCA2* [308]. On peut ainsi supposer qu'une mutation tronquante localisée dans la région HR2 entraînerait la fabrication d'une protéine partiellement conservée mais potentiellement stable, toujours capable d'interagir avec DSS1. Cette protéine partiellement conservée aurait alors un effet dominant négatif sur la protéine *BRCA2* fonctionnelle. Cependant, cette hypothèse sous-entend l'absence du phénomène NMD pour les mutations tronquantes situées dans la région HR2.

¹ La moitié seulement, puisque dans le cas présent les femmes étudiées sont hétérozygotes pour les gènes d'intérêt et que la copie intacte du gène permet la fabrication d'une protéine « sauvage ».

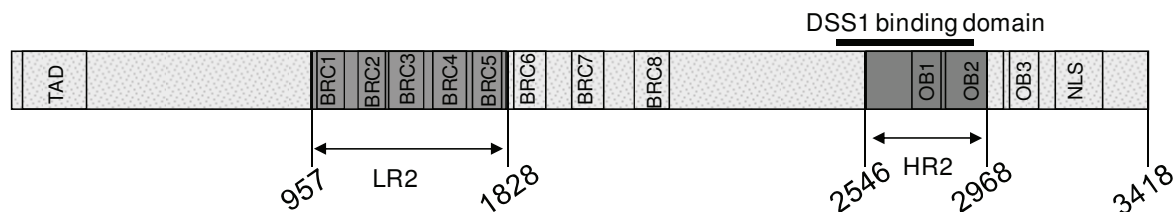


Figure 26 : Schéma du gène *BRCA2*

Dans la cohorte GENEPSO, l'hypothèse du phénomène NMD activé par les mutations situées dans la région centrale des gènes *BRCA1* et *BRCA2* ne peut être vérifiée pour le moment du fait du trop grand nombre de mutations dont le statut est inconnu vis-à-vis du NMD. En effet, pour le gène *BRCA1*, bien qu'il semble que 86% des mutations localisées dans la région LR1 soient soumises au phénomène NMD *versus* 60% pour les mutations situées en dehors de LR1, le statut vis-à-vis du NMD reste inconnu pour 14% des mutations LR1 et 24% des mutations en dehors de LR1. Il en est de même pour le gène *BRCA2* pour lequel presque toutes les mutations semblent soumises au NMD quelque soit leur localisation. Cependant, le statut NMD est inconnu pour 22% des mutations situées dans LR2, 10% des mutations situées dans HR2 et 8% des mutations situées en dehors de ces deux régions.

C. Variation du risque associé aux facteurs non génétiques en fonction de la localisation des mutations dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2*

Tout comme on suppose des étiologies différentes en fonction des types tumoraux [161,162,164-167,309] et en fonction du gène muté (*BRCA1/BRCA2*) [147], il est possible que l'étiologie du cancer du sein soit différente en fonction du type et de la localisation des mutations. A ma connaissance, notre étude est la première à être menée sur la variation du risque de cancer associé aux facteurs de risque du cancer du sein en fonction de la localisation des mutations dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2*.

Pour la plupart des facteurs de risque étudiés dans ce travail de thèse, aucune variation du risque associé à ces facteurs n'est observée en fonction de la localisation des mutations dans les régions homogènes. Cependant on ne peut pas exclure un manque de puissance compte tenu de la petite taille des effectifs dans les analyses stratifiées. Certains facteurs comme l'exposition aux rayons X et les traitements hormonaux substitutifs n'ont pu être étudiés en fonction de la localisation des mutations faute d'effectif.

Dans la cohorte GENEPSO, il semble qu'il y ait une interaction entre le statut ménopausique et la localisation des mutations dans le gène *BRCA1*. En effet, alors que la ménopause augmente le risque de cancer chez les femmes dont la mutation se situe en dehors de la région

LR1, elle est associée à une estimation ponctuelle du risque de cancer diminué chez les femmes dont la mutation se situe dans la région LR1. Bien que cette interaction soit significative, il faut noter que l'estimation du risque de cancer associé à la ménopause dans la région LR1 ne repose que sur un très petit nombre de cas *per se* (43, dont seulement 3 ménopausées).

La ménopause semble également avoir un effet différentiel selon la localisation des mutations dans le gène *BRCA2*. En effet, la ménopause est associée à une augmentation du risque uniquement dans la région HR2. Une fois de plus, il est important de noter que cette estimation ponctuelle du risque de cancer associé à la ménopause ne repose que sur 18 cas, dont 3 ménopausées. Par ailleurs, le risque associé au statut ménopausique dans la région LR2 n'a pas pu être estimé faute de cas.

Enfin, on observe une interaction significative entre la parité et la localisation des mutations dans le gène *BRCA1*. La parité ne semble être un facteur protecteur que dans la région LR1, tandis qu'en dehors de cette région, elle est associée à une estimation ponctuelle du risque augmentée. Contrairement à ce qui est observé pour le statut ménopausique, on observe cette interaction entre la parité et la localisation des mutations uniquement pour le gène *BRCA1* et non pour le gène *BRCA2*.

En population générale, un âge précoce à la ménopause est reconnu comme étant un facteur protecteur vis-à-vis du cancer du sein, cancer hormonaux-dépendant. Les grossesses menées à terme ont également un effet protecteur, mais uniquement pour les femmes âgées de plus de 40 ans. En effet, chaque grossesse augmente transitoirement le risque de cancer du sein immédiatement après la grossesse. La ménopause et les grossesses menées à terme sont, rappelons le, des événements bouleversant l'équilibre hormonal. En effet, tandis que la grossesse provoque une augmentation des taux d'œstrogènes et de progestérone, la ménopause entraîne leur diminution.

Il est intéressant de noter que plusieurs études expérimentales ont mis en évidence des interactions entre œstrogènes et expression des gènes *BRCA1* et *BRCA2*. Il semblerait que *BRCA1*, en plus de ces nombreuses fonctions, ait une action anti-proliférative, via l'inhibition de l'activité transcriptionnelle des récepteurs aux œstrogènes α (RE α). Cette fonction de *BRCA1* se fait grâce à un contact direct entre la protéine *BRCA1* et le RE α par l'intermédiaire des acides aminés situés en dehors de la région LR1 (acides aminés 1 à 300 et région C-terminale) [220-223]. Par ailleurs, au moins deux études ont montré que l'induction de l'expression de *BRCA1* se faisait via l'œstradiol (l'un des œstrogènes) [310,311]. Il a été également montré que la présence d'œstradiol permettait la phosphorylation et la stabilisation de la protéine *BRCA2* [312].

De plus, Bennett *et al.* [313] ont montré que les œstrogènes induisent un phénotype distinct au niveau de la glande mammaire chez des souris hétérozygotes pour des mutations *BRCA1* et *BRCA2*. Ces souris ont un développement morphologique des canaux galactophores inhibé par l'action des œstrogènes, à la différence des souris non mutées. Ces observations sont en accord avec l'hypothèse que la perte du processus de réparation de l'ADN dans des cellules mammaires ayant des mutations du gène *BRCA1* ou *BRCA2* entraîne une inhibition de la croissance et de la différenciation œstrogéno-induites des cellules mammaires. Ainsi, les gènes *BRCA1* et *BRCA2* pourraient participer activement à la prolifération et à la différenciation induite par les œstrogènes, en particulier au cours des périodes d'exposition hormonale importante comme les grossesses, ou à chaque début de cycles menstruels.

L'ensemble de ces études montrent l'existence d'un rapport complexe entre les œstrogènes et les gènes *BRCA1* et *BRCA2*. Bien que n'ayant pas d'hypothèse clairement établie permettant d'expliquer la variation du risque de cancer du sein associé à la parité et au statut ménopausique en fonction de la localisation des mutations, on peut faire l'hypothèse d'un effet différentiel des œstrogènes selon la conservation des domaines par lesquels ils interagissent (directement ou non) avec la protéine *BRCA1* ou *BRCA2*. Si la mutation tronquante intervient après le domaine de liaison et si la protéine tronquée résultante échappe au phénomène NMD, l'interaction protéine-protéine entre *BRCA1* (ou *BRCA2*) est possible. Le complexe ainsi formé peut alors être soit fonctionnel, et permettre à *BRCA1* de conserver sa capacité, par exemple, à réguler le cycle cellulaire, soit ce complexe aboutit à un complexe non fonctionnel et donc à un phénomène de dominance négative.

De nombreuses études ont recherché si les facteurs de types gynéco-obstétriques étaient associés au risque de développer un cancer du sein de façon différente selon le type de la tumeur (exemple : [161-168]. Plusieurs d'entre elles, dont celle de Ma *et al.* [161], montrent en 2010 que la parité est un facteur protecteur uniquement des tumeurs non triples négatives. Pin-Ping Bao *et al.* [171] décrivent, quant à eux, que l'utilisation de traitements hormonaux substitutifs n'est un facteur de risque que pour les tumeurs ER+/PR-. Il a été également observé que les tumeurs « basal like »¹ étaient plus souvent développées par les femmes non ménopausées comparativement aux tumeurs de type luminal A [314,315]. De même que ces auteurs ont trouvé des facteurs de risque spécifiques à des sous types tumoraux, il serait intéressant de savoir si les régions que nous avons identifiées sont associées à des types tumoraux spécifiques.

¹ Je rappelle que la majorité des tumeurs triple négatives sont des tumeurs « basal-like »

IV. Conclusion

Cette étude montre l'importance de la prise en compte simultanée des facteurs de risque gynéco-obstétriques ou de « style de vie » et de la localisation des mutations dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* dans l'estimation des risques de cancer du sein chez les femmes à risque élevé de cancer du sein que sont les porteuses d'une mutation du gènes *BRCA1* et *BRCA2*. En effet, nos résultats suggèrent l'existence d'interactions entre certains facteurs de risque et la localisation des mutations. Ainsi, si nos résultats sont confirmés, la prise en compte de ces facteurs dans l'estimation des risques individuels pourrait aider les femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2* à choisir le type de stratégie de surveillance ou de prévention (chirurgie prophylactique) le mieux adapté à leur situation.

De plus, l'étiologie des différents types de tumeurs et la variation du risque associé à la parité et à la ménopause en fonction de la localisation des mutations dans les régions homogènes définies dans cette étude, pourrait également permettre de générer des hypothèses quant aux mécanismes physiopathologiques du cancer et particulièrement du cancer du sein chez les femmes mutées *BRCA1* et *BRCA2*.

V. Perspectives

Notre étude souffre de toute évidence d'une puissance limitée surtout quand les analyses sont stratifiées ou faites en sous-groupe. Cependant, elle a permis une approche exploratoire de la problématique et nos résultats devront être répliqués et confirmés sur d'autres populations d'étude. Il est prévu de reproduire cette étude sur les données rétrospectives fusionnées des cohortes IBCCS et CIMBA qui doivent compter à ce jour plus de 3000 femmes. L'accord des deux consortia a été donné et les données devraient être mises à la disposition de l'équipe début 2013.

Nos résultats montrent une variation du risque associé à la parité et à la ménopause en fonction de la localisation de la mutation dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2*. Plusieurs études ont montré que les risques associés à certains facteurs de risque gynéco-obstétrique, dont la parité, variaient en fonction du type tumoral (exemple : [161,169,171]). Il serait donc intéressant de vérifier si la distribution des types tumoraux diffère en fonction de la localisation des mutations dans les régions définies dans cette étude. Nous devrions prochainement avoir accès aux données relatives aux types des tumeurs développées par les femmes de la cohorte GENEPSO afin de tester cette hypothèse. De même, si nos observations sont confirmées sur un échantillon plus grand, il serait intéressant de générer des hypothèses

biologiques sous-jacentes à la variation du risque de cancer en fonction de la localisation des mutations et à la variation du risque associé à la parité et à la ménopause en fonction de la localisation des mutations (une collaboration avec Etienne Rouleau (Institut Curie, St Cloud) est prévue).

A ce jour, le service d'oncogénétique de l'Institut Curie utilise le modèle BOADICEA pour estimer les risques individuels de cancer du sein et de l'ovaire chez les femmes appartenant à des familles à haut risque mais non porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2*. En effet, il n'existe à ce jour aucune recommandation clairement établie pour le suivi de ces femmes [316]. Les onco-généticiens adaptent ainsi les stratégies de surveillance et/ou de prévention en fonction de ces estimations chez la consultante. Il a été cependant montré que ce modèle, qui prend en compte la structure familiale, l'âge des apparentés, les cancers du sein, de l'ovaire, de la prostate et du pancréas développés par les apparentés avec l'âge au diagnostic, discriminait très mal (Thèse d'Antoine de Pauw [316]). Dans le cadre des femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2*, le modèle BOADICEA n'est pas utilisé puisque des recommandations nationales ont été publiées. Ainsi, le suivi de ces femmes se réfère à l'estimation moyenne des risques de cancer du sein et de l'ovaire qui, comme le montrent nos résultats, varient en fonction de facteurs modificateurs tels que la localisation des mutations, la parité et le statut ménopausique. Si confirmés, nos résultats pourraient permettre d'améliorer le modèle BOADICEA afin d'estimer les risques individuels de femmes porteuses d'une mutation du gène *BRCA1* ou *BRCA2* ou de développer un nouvel outil de calcul de risque.

Annexes

I. Publications issues de ce travail de thèse

Variation in breast cancer risk with mutation position, smoking, alcohol, and chest X-ray history, in the French National BRCA1/2 carrier cohort (GENEPSO)

Julie Lecarpentier · Catherine Noguès · Emmanuelle Mouret-Fourme ·
Dominique Stoppa-Lyonnet · Christine Lasset · Olivier Caron · Jean-Pierre Fricker ·
Laurence Gladieff · Laurence Faivre · Hagay Sobol · Paul Gesta · Marc Frenay ·
Elisabeth Luporsi · Isabelle Coupier · GENEPSO · Rosette Lidereau · Nadine Andrieu

Received: 21 April 2011 / Accepted: 22 June 2011
© Springer Science+Business Media, LLC. 2011

Abstract Germline mutations in BRCA1/2 confer a high risk of breast cancer (BC), but the magnitude of this risk varies according to various factors. Although controversial, there are data to support the hypothesis of allelic-risk heterogeneity. We assessed variation in BC risk according to the location of mutations recorded in the French study GENEPSO. Since the women in this study were selected from high-risk families, oversampling of affected women was eliminated by using a weighted Cox-regression model. Women were censored at the date of diagnosis when affected by any cancer, or the date of interview when

unaffected. A total of 990 women were selected for the analysis: 379 were classified as affected, 611 as unaffected. For BRCA1, there was some evidence of a central region where the risk of BC is lower (codons 374–1161) (HR = 0.59, $P = 0.04$). For BRCA2, there was a strong evidence for a region at decreased risk (codons 957–1827) (HR = 0.35, $P = 0.005$) and for one at increased risk (codons 2546–2968) (HR = 3.56, $P = 0.01$). Moreover, we found an important association between radiation exposure from chest X-rays and BC risk (HR = 4.29, $P < 10^{-3}$) and a positive association between smoking more than 21 pack-years and BC risk (HR = 2.09, $P = 0.04$). No significant variation in BC risk associated

GENEPSO Collaborating Centers are listed in [Appendix](#).

J. Lecarpentier · N. Andrieu (✉)
Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Unité
U900, 26 rue d'Ulm, 75248 Paris Cedex 05, France
e-mail: nadine.andrieu@curie.net

J. Lecarpentier · N. Andrieu
Institut Curie, Centre de Recherche – Service de Biostatistiques,
26 rue d'Ulm, 75248 Paris Cedex 05, France

J. Lecarpentier · N. Andrieu
Ecole des Mines de Paris, Paris Tech, 77300 Fontainebleau,
France

C. Noguès · E. Mouret-Fourme
Institut Curie, Hôpital René Huguenin, 92210 Saint-Cloud,
France

D. Stoppa-Lyonnet
Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Unité
U509, Service de Génétique Oncologique, Institut Curie,
Université Paris-Descartes, 26 rue d'Ulm, 75248 Paris, France

C. Lasset
Centre Léon Bérard, Département de Santé Publique, 28 rue
Laënnec, 69737 Lyon, France

O. Caron
Institut de Cancérologie Gustave Roussy, Service d'Oncologie
Génétique, 39 rue Camille Desmoulins, 94800 Villejuif, France

J.-P. Fricker
Centre Paul Strauss, Unité d'Oncologie, 3 rue Porte de l'Hôpital,
67065 Strasbourg, France

L. Gladieff
Institut Claudius Regaud, Service d'Oncologie Médicale, 20–24
rue du Pont Saint Pierre, 31052 Toulouse, France

L. Faivre
Centre Georges François Leclerc, Oncogénétique and Hôpital
d'Enfants, Service de Génétique Médicale, 10 boulevard du Mal
de Latre de Tassigny, 21079 Dijon, France

H. Sobol
Institut Paoli-Calmettes, Département d'Oncologie Génétique,
232 boulevard Ste Marguerite, 13273 Marseille, France

P. Gesta
C.H.R. Georges Renon, Pôle Oncologie, 40 avenue Charles de
Gaulle, 79021 Niort, France

with chest X-ray exposure, smoking, and alcohol consumption was found according to the location of the mutation in *BRCA1* and *BRCA2*. Our findings are consistent with those suggesting that the risk of BC is lower in the central regions of *BRCA1/2*. A new high-risk region in *BRCA2* is described. Taking into account environmental and lifestyle modifiers, the location of mutations might be important in the clinical management of *BRCA* mutation carriers.

Keywords Breast cancer · Risk factor · Genotype–phenotype correlation · *BRCA1* · *BRCA2* · Interaction

Introduction

Carriers of mutations in the *BRCA1* and *BRCA2* genes are at very high risk of developing breast cancer (BC) and ovarian cancer. Estimates of the lifetime risk of developing BC for *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers range, respectively, from 30 to 80% and from 9 to 84% [1]. Incomplete penetrance and the range of these risk estimates suggest the existence within families of genetic or shared environmental or lifestyle factors that modify the risk of BC.

Among studies that have attempted to identify environmental or lifestyle modifiers of *BRCA1* or *BRCA2*, few have examined smoking, alcohol consumption, or history of chest X-ray exposure, and they have often reached different conclusions, showing an overall lack of consistency. The effect of alcohol among *BRCA1/2* carriers has been investigated in only two studies [2, 3]. Studies on the effect of smoking on BC in *BRCA* mutation carriers have also yielded different results [4–10]. Among studies of the effect of exposure to low-dose radiation during mammography or chest X-ray [11–15], two show a significantly increased risk of BC [11, 12]. These inconsistencies between the studies may be due to heterogeneity in BC risk

associated with environmental factors according to the location of the mutation in the gene. Genotype–phenotype correlations have been described in both *BRCA1* and *BRCA2* (e.g. [16–19]). In *BRCA1*, the risk of BC has been reported to increase from the 5′ to 3′ regions [20, 21] and to be lower in the central region [18]. In *BRCA2*, most studies have reported a central region named OCCR (for “ovarian cancer cluster region”) where the risk of BC is decreased compared with outside this region [17, 20, 22, 23]. Therefore, we first studied the effect of mutation position on the risk of BC and identified homogeneous regions. Then for homogeneous BC risk regions, we studied the effects of smoking, alcohol consumption, and history of chest X-ray exposure on the risk of BC.

Materials and methods

Data

The GENEPSO study was initiated to estimate the risk of breast, ovarian, and other cancers in *BRCA1/2* mutation carriers and to assess potential risk-modifying factors. Subjects were ascertained from the family cancer clinics of the Genetic and Cancer Group of the Fédération Nationale des Centres de Lutte Contre le Cancer. Any woman who was known to carry a deleterious mutation in the *BRCA* genes was eligible, including those who had been diagnosed with cancer, as well as those who were currently unaffected. They had to be at least 18 years old, mentally capable of giving informed consent to study participation, and had been counseled about their mutation status. The research protocol was approved by the relevant ethics committees, and all participants provided written informed consent.

The study population was based on the women enrolled into the GENEPSO study from 2000 to 2010. A total of 1,337 women were recruited, 863 (65%) were *BRCA1* mutation carriers, and 474 (35%) were *BRCA2* mutation carriers. To assess variation in BC risk according to mutation position, a sample with one subject per family was randomly selected to avoid overmatching on the mutation.

A standardized questionnaire on reproductive factors, lifestyle factors, and history of chest X-ray exposure was administered to the study subjects by mail. Tobacco history was assessed first as past, current, or never use. For subjects who ever smoke, information on age when starting (and when stopping for past smokers), the number of cigarettes, and total duration of smoking was required. Alcohol consumption was also first assessed as ever or never use. Detailed information was recorded on the number of glasses per week, categorized as 0, 1–5, 6–10, and more

M. Frenay
Centre Antoine Lacassagne, Unité d’Oncogénétique, 33 avenue
de Valombrose, Nice 06189, France

E. Luporsi
Centre Alexis Vautrin, 6 avenue de Bourgogne, 54511
Vandoeuvre-les-Nancy, France

I. Coupier
Hopital Arnaud de Villeneuve, CHU Montpellier, Service de
Génétique médicale et Oncogénétique, 371 ave du Doyen Gaston
Giraud, 34295 Montpellier, France

R. Lidereau
Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Unité
U735 and Laboratoire d’Oncogénétique, Hôpital René
Huguenin, Saint-Cloud, France

than 10 at the age of 20 and at the interview. Exposure to chest X-rays (excluding mammograms) was first assessed as ever or never exposed. For subjects who reported at least one exposure, more specific information was requested relating to the number of X-ray exposures before and after age 20 (0, 1–4, or ≥ 5 X-rays in each of the two age periods). These two variables were combined to create a measure related to age at first exposure (before or after age 20) and another measure related to level of X-ray exposure (only one period with ≤ 4 X-rays and no period with ≥ 5 X-rays; two periods with 1–4 X-rays; one or two periods with ≥ 5 X-rays).

Genotyping

The mutation screening strategy was similar across the clinics, i.e., the youngest living affected family member was tested first and, if a *BRCA1/2* mutation was found, affected and unaffected family members were offered testing.

The full coding sequences and the exon–intron junctions of the *BRCA* genes were screened for variants, based on pre-screening (DGGE, SSCP, PTA, dHPLC, HRM or EMMA) and sequencing. Several large rearrangements were identified by large cDNA sequencing, MLPA [24], QMPFS [25], qPCR [26], qPCR HRM [27], EMMA [28], bar code screening [29], or dedicated array CGH [30]. Mutation description was provided by each French laboratory, coded, and standardized according to the international nomenclature.

Statistical methods

The data presented here were analyzed using a modified Cox proportional hazards regression model. Standard Cox regression may lead to biased estimates of the hazard ratio (HR) because the women in this study were taken from high-risk families qualifying for genetic testing. The disease status may therefore have affected the likelihood of ascertainment and the selection leading to an over-sampling of affected women. To correct for this bias, the Cox regression analyses were performed using the weighted regression approach described by Antoniou et al. [31]. Individuals were weighted such that the observed BC incidence rates in the study sample were consistent with established BC risk estimates for *BRCA1* and *BRCA2* carriers [1]. The affected mutation carriers were underweighted (weights < 1), and the unaffected mutation carriers were overweighted (weights > 1). The weights were applied to all person-years of each subject in the modified Cox model.

Subjects were followed up from birth and censored for women who were affected by any cancer at the date of diagnosis, or the date of prophylactic bilateral mastectomy or interview for unaffected women.

Deleterious mutations were classified in two classes: nonsense mutation and other type (i.e., missense mutations, in-phase skipping, partial, or entire gene deletions).

To assess variation in BC risk according to the location of nonsense mutations, *BRCA1* and *BRCA2* were divided into 20 codon regions of variable length corresponding to the 20-quantiles of the distribution of the mutation position among unaffected women. The HR was then estimated for each region, and contiguous regions with similar HR point estimates were combined to determine homogeneous regions in BC risk, and 95% confidence intervals were calculated. To avoid tests biased by the step-by-step inference process that we used to identify homogeneous regions, we performed permutation analyses to estimate the *P* value. 10,000 samples were simulated under the null hypothesis of no variation in BC risk according to nonsense mutation position. The HRs associated with regions defined as homogeneous were calculated in the 10,000 samples. The *P* value equals the proportion of HRs estimated from simulated samples which were equal to or less probable than the observed HR.

Tobacco use changed over time, so it was analyzed as a time-dependent covariate. All analyses were stratified by the year of birth (before 1940, 1940–1949, 1950–1959, 1960 or later). In addition, because parity, menopausal status, BMI, and gene may substantially modify the risk of BC and thus may be potential confounders, analyses were adjusted for menopausal status (yes/no) and parity (0, 1, 2, 3, ≥ 4) both time-dependent variables; BMI (< 18.5 , 18.5–25, > 25); and gene (*BRCA1* or *BRCA2*). Because alcohol and tobacco consumption are strongly associated, analyses of their effects were carried out separately: (1) for never-smokers and ever-smokers when the effect of alcohol use was assessed; and (2) for alcohol drinkers and non-drinkers when smoking effect was assessed.

All statistical analyses were two-sided and were performed using the STATA statistical package (version 10; Stata Corporation, College Station TX).

Results

Characteristics of the whole cohort and of one-woman-per-family cohorts are listed in Table 1. A total of 563 women had been diagnosed with BC at the time of their interview; however, only 499 of these women were considered as affected in this analysis after censoring. The remaining 838 women were censored at age, at diagnosis of ovarian cancer ($N = 89$), at diagnosis of another cancer ($N = 16$), at prophylactic bilateral mastectomy ($N = 11$), or at interview ($N = 722$). The average age at censoring for the 838 participants without BC was 40.0 years (SD = 10.8),

Table 1 Characteristics of the cohort study of *BRCA1/2* mutation carriers

Characteristics	Whole cohort						One woman per family					
	All women (<i>N</i> = 1337)		With BC (<i>N</i> = 499)		Without BC (<i>N</i> = 838)		All women (<i>N</i> = 990)		With BC (<i>N</i> = 379)		Without BC (<i>N</i> = 611)	
	No	%	No	%	No	%	No	%	No	%	No	%
Gene mutated												
<i>BRCA1</i>	863	64.6	332	66.5	531	63.4	635	64.1	240	63.3	395	64.7
<i>BRCA2</i>	474	35.5	167	33.5	307	36.6	355	35.9	139	36.7	216	35.4
Age at interview, years												
Mean	44.1		49.4		41.0		43.7		48.6		40.7	
SD	12.7		10.8		12.7		12.3		10.5		12.3	
Age at diagnosis/censoring, years												
Mean	40.4		41.0		40.0		40.1		40.4		39.8	
SD	10.8		8.80		10.8		10.5		8.80		11.5	
<30	196	14.7	34	6.80	162	19.3	142	14.3	29	7.70	113	18.5
30–39	487	36.4	205	41.1	282	33.7	371	37.5	159	42.0	212	34.7
40–49	403	30.1	176	35.3	227	27.1	306	30.9	133	35.1	173	28.3
50–59	180	13.5	67	13.4	113	13.5	126	12.7	47	12.4	79	12.9
≥60	71	5.30	17	3.40	54	6.40	45	4.60	11	2.90	34	5.60
Year of birth												
<1950	354	26.5	201	40.3	153	18.3	237	23.9	139	36.7	98	16.0
1950–1960	324	24.2	165	33.1	159	19.0	248	25.1	128	33.8	120	19.6
1960–1970	351	26.3	119	23.9	232	27.7	282	28.5	99	26.1	183	30.0
≥1970	308	23.0	14	2.80	294	35.1	223	22.5	13	3.40	210	34.4
Consumption of tobacco												
Never	693	51.8	262	52.5	431	51.4	507	51.2	194	51.2	313	51.2
Ever	642	48.0	236	47.3	406	48.5	481	48.6	184	48.6	297	48.6
Missing	2	0.20	1	0.20	1	0.10	2	0.20	1	0.30	1	0.20
Consumption of alcohol												
Never	352	26.3	117	23.5	235	28.0	259	26.2	90	23.8	169	27.7
Ever	984	73.6	382	76.6	602	71.8	730	73.7	289	76.3	441	72.2
Missing	1	0.10	0	0.00	1	0.10	1	0.10	0	0.00	1	0.20
Chest X-ray exposure												
Never exposed	187	14.0	14	2.80	173	20.6	139	14.0	10	2.60	129	21.1
≥1 X-ray	1,121	83.8	481	96.4	640	76.4	826	83.4	365	96.3	461	75.5
Missing	29	2.20	4	0.80	25	3.00	25	2.50	4	1.10	21	3.40

which is similar to the age at diagnosis of the women with BC (41.0 years, SD = 8.8), although the age at interview was substantially greater for the BC patients, reflecting the pattern of genetic testing among participants. Sampling of one woman per family did not change any characteristic distribution or the average of age at censoring (40.4 years, SD = 8.8 and 39.8 years, SD = 11.5, respectively, for women with and without BC). Year of birth, consumption of tobacco and alcohol, and chest X-ray exposure are also described. There were a total of 39,666 person-years of observation.

Variation of BC risk according to mutation type and location in *BRCA1* and *BRCA2* is shown in Table 2. First,

classification of mutations as nonsense or other showed that there was no significant difference in BC risk for either *BRCA1* (HR = 1.06, 95% CI = 0.68–1.66) or *BRCA2* (HR = 0.49, 95% CI = 0.18–1.29), even though the point estimate showed a 50% decrease in BC risk. The distribution of the nonsense mutations is shown in Figs. 1 and 2 for *BRCA1* and *BRCA2* carriers, respectively. To assess variation in BC risk according to the position of the nonsense mutations, we partitioned *BRCA1* and *BRCA2* according to the 20-quantiles of the distribution of mutation positions among unaffected women, and this led to regions of varying length (mean length = 101 codons and 165 codons for *BRCA1* and *BRCA2*, respectively). Three

Table 2 Variation of BC risk according to the type and location of the mutation in *BRCA1* and *BRCA2*

	Person-years	Without BC	With BC	HR	95% CI	P
<i>BRCA1</i>						
Mutation type						
Nonsense	22,057	353	209	1.00		
Other type	2,988	42	31	1.06	0.68–1.66	ns
Nonsense mutation location, codon						
0–373	4,327	71	43	1.00		
374–1161 (LR1)	5,367	89	43	0.59	0.36–0.97	0.04
1162–1851	12,363	193	123	0.87	0.58–1.30	ns
<i>BRCA2</i>						
Mutation type						
Nonsense	13,493	198	131	1.00		
Other type	1,128	18	8	0.49	0.18–1.29	ns
Nonsense mutation location, codon						
0–956	3,957	60	39	1.00		
957–1827 (LR2)	2,281	43	11	0.35	0.15–0.80	0.005
1828–2545	4,642	66	45	0.96	0.53–1.73	ns
2546–2968 (HR2)	1,137	10	19	3.56	1.49–8.50	0.01
2969–3418	1,476	19	17	1.49	0.70–3.19	ns

HR hazard ratio; CI confidence interval

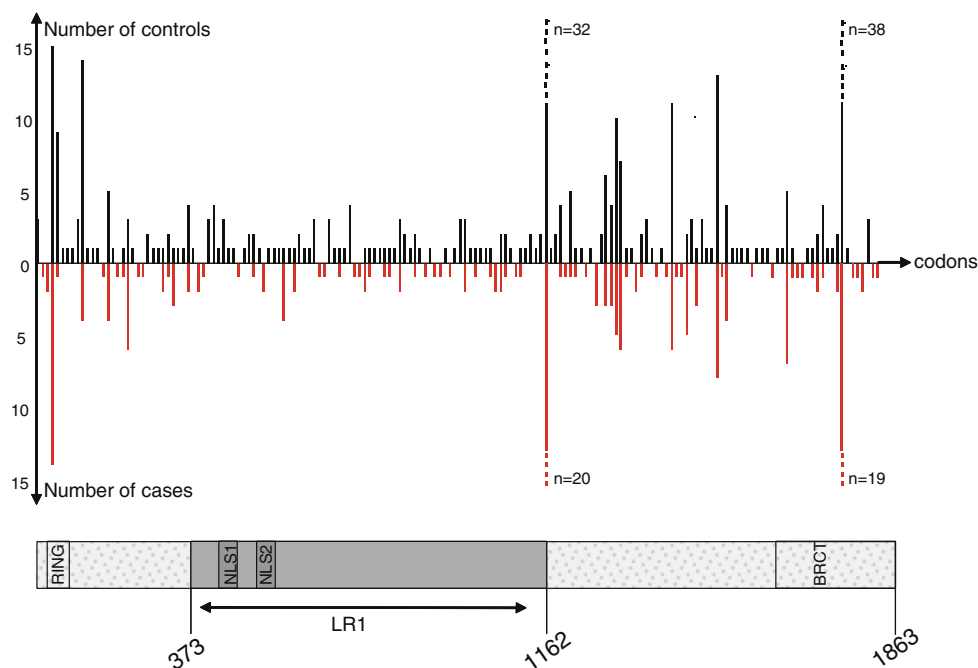


Fig. 1 Distribution of *BRCA1* mutations among the study subjects. *Ring* ring finger domain; *NLS* Nuclear Localization Signal; *BRCT* *BRCA1* C-terminal domain; *LR1* lower risk region in *BRCA1*. ■ Controls; ■ Cases

regions homogeneous in BC risk were determined in *BRCA1* and four in *BRCA2*. In *BRCA1*, mutations between codons 374 and 1161 (LR1 for “lower risk region in *BRCA1*”) were associated with a significant decrease in the

risk of BC (HR = 0.59, 95% CI = 0.36–0.97, $P = 0.04$) as compared with mutations located before codon 373. The third homogeneous region located from codon 1161 to the end was associated with a nonsignificant HR equal to 0.87

Fig. 2 Distribution of *BRCA2* mutations among the study subjects. *TAD* Transcription activation domain; *BRC* eight ~35 amino acid motifs repeats; *OB* oligonucleotide-binding folds; *NLS* Nuclear Localization Signal; *DSS1* deleted in split hand/split foot protein 1; *LR2* lower risk region in *BRCA2*; *HR2* higher risk region in *BRCA2*. ■ Controls; ■ Cases

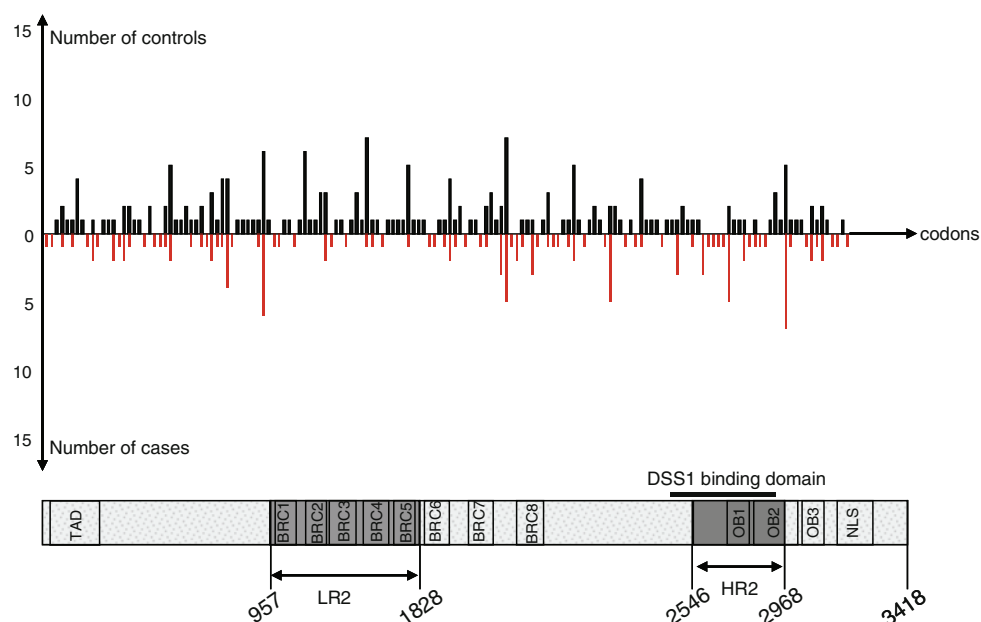


Table 3 Variation of BC risk according to chest X-ray exposure

	No. of person-years ^a	No. of cases ^a	HR	95% CI	P value
X-ray exposure ^b					
Never exposed	4,726	10	1.00		
≥1 X-ray	33,670	365	4.29	2.09–8.81	<10 ⁻³
Age at 1st X-ray exposure ^b					
Never exposed	4,726	10	1.00		
Before age 20 years	30,979	331	4.16	2.03–8.56	<10 ⁻³
After age 20 years	2,691	34	6.45	2.86–14.6	<10 ⁻³
Level of X-ray exposure ^b					
Never exposed	4,726	10	1.00		
Only one period with 1–4 X-rays	1,520	12	4.83	1.83–12.8	<10 ⁻³
Two periods with 1–4 X-rays	20,348	276	6.22	2.94–13.1	<10 ⁻³
At least one period with 5 + X-rays	9,139	62	2.80	1.30–6.05	0.01

HR hazard ratio; CI confidence interval

^a Not including missing data

^b Adjusted for parity, menopausal status, and gene

(95% CI = 0.58–1.30). Among *BRCA2* mutation carriers, mutations between codons 957 and 1827 (LR2 for “lower risk region in *BRCA2*”) were associated with a significant decrease in the risk of BC (HR = 0.35, 95% CI = 0.15–0.80, $P = 0.005$), whereas mutations between codons 2546 and 2968 (HR2 for “higher risk region in *BRCA2*”) were associated with a significantly increased BC risk (HR = 3.56, 95% CI = 1.49–8.50, $P = 0.01$), as compared with mutations located before codon 956.

The estimated risks of BC associated with chest X-ray exposure (excluding mammograms), tobacco consumption, and alcohol consumption are summarized in Tables 3, 4, 5, and 6.

Very few subjects, particularly those with BC, had never been exposed to chest X-ray at census (2.8% of cases). Overall, any exposure to chest X-ray was associated with a significantly increased risk of BC (HR = 4.29, 95% CI = 2.09–8.81) (cf. Table 3). Chest X-ray exposure was significantly associated with an increased risk of BC whenever the first exposure was before or after age 20 and whatever the level of exposure. No difference was found when stratified by gene. Exposure to chest X-ray was associated with a significantly increased risk of BC among *BRCA1* carriers (HR = 4.12, 95% CI = 1.82–9.35) and among *BRCA2* carriers (HR = 5.43, 95% CI = 1.36–21.7) (data not shown).

Table 4 Variation of BC risk according to alcohol and tobacco consumption

	Never user of alcohol					Ever user of alcohol				
	Person-years ^a	No. of cases ^a	HR	95% CI	<i>P</i> value	Person-years ^a	No. of cases ^a	HR	95% CI	<i>P</i> value
Tobacco consumption^b										
Never use	8,742	62	1.00			20,863	139	1.00		
Current use	1,037	18	2.09	1.04–4.19	0.04	5,630	85	0.97	0.66–1.44	ns
Past use	334	9	0.74	0.31–1.79	ns	1,917	61	1.21	0.83–1.77	ns
Pack-years^b										
0–5	9,192	64	1.00			23,423	158	1.00		
6–20	846	17	1.03	0.52–2.05	ns	4,276	87	1.16	0.83–1.63	ns
≥21	67	8	3.21	1.24–8.31	0.02	689	40	1.13	0.68–1.86	ns
Time since last use^b										
Never stopped	1,037	18	1.00			5,630	85	1.00		
≤10 years	230	8	0.70	0.23–2.14	ns	1,236	33	1.35	0.80–2.29	ns
>10 years	104	1	0.12	0.02–0.77	0.03	681	28	1.15	0.67–1.98	ns
Never used	8,742	62	0.48	0.24–0.96	0.04	20,863	139	1.02	0.69–1.51	ns
	Never smoker					Ever smoker				
	Person-years ^a	No. of cases ^a	HR	95% CI	<i>P</i> value	Person-years ^a	No. of cases ^a	HR	95% CI	<i>P</i> value
Alcohol consumption^b										
Never use	8,742	62	1.00			1,371	27	1.00		
Current use	20,863	139	1.10	0.76–1.61	ns	7,547	146	0.89	0.53–1.52	ns
Alcohol consumption at age 20 years (glasses/week)^b										
Never use	18,579	137	1.00			4,306	93	1.00		
1–5	5,246	29	0.82	0.50–1.34	ns	1,837	29	0.74	0.44–1.26	ns
6–10	4,164	24	1.02	0.56–1.87	ns	1,832	36	1.18	0.72–1.93	ns
>10	1,235	9	1.26	0.53–2.96	ns	669	12	0.89	0.40–1.96	ns

HR hazard ratio; CI confidence interval

^a Not including missing data^b Adjusted for parity, menopausal status, gene, and number of years of smoking interruption

Because of a borderline negative interaction between the alcohol and tobacco consumption ($P = 0.058$), analyses were performed stratified by tobacco use when alcohol consumption effect was assessed and vice versa (Table 4). Among alcohol drinkers, none of the HRs associated with tobacco is significantly different from unity. Inversely, among those who have never drunk alcohol, a significantly increased risk of BC was found among current smokers (HR = 2.09, 95% CI = 1.04–4.19), with a maximum risk among those who smoked more than 21 pack-years (HR = 3.21, 95% CI = 1.24–8.31); among past smokers, a significant decrease in risk of BC was found for those who had stopped smoking more than 10 years before (HR = 0.12, 95% CI = 0.02–0.77). For alcohol consumption, there was no increased risk of BC among current smokers, past smokers, or never smokers. When stratified by gene, results for alcohol and tobacco consumption for *BRCA1* carriers were similar to those found for *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers taken together (cf. Table 5).

Among *BRCA2* carriers, there was no significant interaction between alcohol and tobacco consumption ($P = 0.75$), so analyses of tobacco and alcohol use were not stratified (Table 6). Results for tobacco use led to an increase in BC risk similar to that found for *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers taken together. For alcohol use, the HR point estimates are higher than those found among *BRCA1* carriers (e.g., ever vs. never, HR = 1.21, 95% CI = 0.68–2.15) and equals 1.78 among those who consumed more than five glasses per week at age 20 (95% CI = 0.97–3.27, $P = 0.07$) (data not shown).

Estimated risks of BC associated with tobacco or alcohol consumption and chest X-ray exposure (excluding mammograms) according to the mutation location were assessed by the regions defined as homogeneous. As described above, analyses by mutation location were performed stratified by tobacco use when alcohol consumption effect was assessed and vice versa for *BRCA1*, and not stratified for *BRCA2*.

Table 5 Variation of BC risk according to alcohol and tobacco consumption in *BRCA1* carriers

	Never user of alcohol					Ever user of alcohol				
	Person-years ^a	No. of cases ^a	HR	95% CI	<i>P</i> value	Person-years ^a	No. of cases ^a	HR	95% CI	<i>P</i> value
Tobacco consumption ^b										
Never use	5,136	38	1.00			13,562	92	1.00		
Current use	702	13	2.09	0.94–4.65	0.07	3,523	48	0.87	0.52–1.43	ns
Past use	240	5	0.56	0.19–1.62	ns	1,165	41	1.25	0.81–1.93	ns
Pack-years ^b										
0–5	5,453	40	1.00			15,116	103	1.00		
6–20	586	11	0.84	0.38–1.87	ns	2,711	60	1.23	0.83–1.82	ns
≥21	39	5	3.29	1.09–9.95	0.04	401	18	0.87	0.45–1.68	ns
Time since last use ^b										
Never stopped	702	13	1.00			3,523	48	1.00		
≤10 years	166	4	0.44	0.10–1.89	ns	773	25	1.64	0.87–3.10	ns
>10 years	74	1	0.13	0.02–0.80	0.03	392	16	1.26	0.64–2.46	ns
Never smoked	5,136	38	0.47	0.21–1.06	0.07	13,562	92	1.15	0.70–1.90	ns
	Never smoker					Ever smoker				
	Person-years ^a	No. of cases ^a	HR	95% CI	<i>P</i> value	Person-years ^a	No. of cases ^a	HR	95% CI	<i>P</i> value
Alcohol consumption ^b										
Never use	5,136	38	1.00			942	18	1.00		
Current use	13,562	92	1.02	0.65–1.60	ns	4,688	89	0.90	0.49–1.68	ns
Alcohol consumption at age 20 years (glasses/week) ^b										
Never use	11,560	86	1.00			2,906	63	1.00		
1–5	3,364	21	0.79	0.43–1.46	ns	1,029	16	0.70	0.35–1.38	ns
6–10	2,677	16	0.89	0.44–1.80	ns	1,032	19	1.10	0.59–2.03	ns
>10	866	6	1.16	0.42–3.19	ns	464	7	0.78	0.31–1.96	ns

HR hazard ratio; CI confidence interval

^a Not including missing data

^b Adjusted for parity, menopausal status, gene, and number of years of smoking interruption

Among *BRCA1* mutation carriers, the number of mutation carriers in LR1 was too small to assess the effect of tobacco and alcohol consumption. The BC risk associated with chest X-ray exposure did not significantly differ between LR1 (HR = 3.75, 95% CI = 1.28–11.0) and outside LR1 (HR = 2.39, 95% CI = 0.67–8.48).

Among *BRCA2* mutation carriers, the number of subjects with a mutation in LR2 and HR2 was also too small to analyze variation in the effect of chest X-ray exposure, and in particular there were almost no unexposed subjects per region of interest. However, for consumption of alcohol and tobacco, despite the small number of subjects, HR point estimates seemed different between regions. Ever versus never smoking was associated with a HR point estimate greater than unity, albeit not significantly, in LR2 (LR2: HR = 2.84, 95% CI = 0.61–13.3; HR2: HR = 0.67, 95% CI = 0.17–2.56; reference region: HR = 1.12, 95% CI = 0.62–2.01; $P_{\text{heterogeneity}}$ = ns). For alcohol consumption, a HR point estimate greater than unity was found only in the reference zone (reference zone:

HR = 1.82, 95% CI = 0.95–3.48; LR2: HR = 0.38, 95% CI = 0.07–1.90; HR2: HR = 0.28, 95% CI = 0.05–1.44; $P_{\text{heterogeneity}}$ = ns) (data not shown).

Discussion

Our results confirm the existence of a central low BC risk region in *BRCA1* (LR1) and one in *BRCA2* (LR2), the latter located in the same area as the OCCR region described previously [16–18, 23]. In addition, a new high BC risk region (HR2) is found in the 3' region of *BRCA2* between the codons 2546 and 2968. No significant variation in BC risk associated with chest X-ray exposure is found according to the location of the mutation. Although not statistically significant, point estimates suggest a possible variation in BC risk associated with alcohol and tobacco consumption according to the location of the mutation in *BRCA2*.

Since our data used prevalent cases with some women being interviewed a long time after their BC diagnosis, we

Table 6 Variation of BC risk according to alcohol and tobacco consumption in *BRCA2* carriers

	Person-years ^a	No. of cases ^a	HR	95% CI	<i>P</i> value
Tobacco consumption ^b					
Never use	10,907	71	1.00		
Current use	2,442	42	1.39	0.73–2.63	ns
Past use	846	24	1.18	0.60–2.33	ns
Pack-years ^b					
0–5	12,046	79	1.00		
6–20	1,825	33	1.07	0.58–1.98	ns
≥21	316	25	2.25	1.05–4.82	0.04
Time since last use ^b					
Never stopped	2,442	42	1.00		
≤10 years	527	12	0.84	0.37–1.90	ns
>10 years	319	12	0.71	0.30–1.70	ns
Never smoked	10,907	71	0.65	0.37–1.14	ns
Alcohol consumption ^c					
Never use	4,035	33	1.00		
Current use	10,447	106	1.21	0.68–2.15	ns
Alcohol consumption at age 20 years (glasses/week) ^c					
Never use	8,510	81	1.00		
1–5	2,854	23	0.87	0.47–1.60	ns
6–10	2,319	25	1.85	0.89–3.86	ns
>10	574	8	1.64	0.66–4.02	ns

HR hazard ratio; CI confidence interval

^a Not including missing data

^b Adjusted for parity, menopausal status, gene, number of years of smoking interruption and alcohol use

^c Adjusted for parity, menopausal status, gene, smoking and number of years of smoking interruption

cannot exclude that our findings on mutation position, chest X-ray exposure, and tobacco and alcohol consumption are affected by a potential survival bias. The negative interaction between tobacco and alcohol use found in our data could be due to such survival bias [32–36]. However, we could not detect it in our data by performing extra analyses on subsamples of individuals diagnosed or censored within the 5-year period before or at their interview, with a follow-up being counted only for this period. We do not observe differences in our results using this pseudo-incident cohort.

The locations of low or high BC risk regions in *BRCA1* and *BRCA2* differ a little from those previously published [17, 18, 20–23]. We may have missed other variations in BC risk along the genes because of our a priori cut-point which may not be fine enough. However, our a priori number of quantiles was dictated by sample size limitation. We can not exclude that these variations may be due to confounders like modifiers (either genetic or environmental) resulting in a strong family history of BC or of ovarian cancer. Unfortunately, the pedigree data were not available in this study. Our approach though allows us to describe a new region of high BC risk in *BRCA2* in the C-terminal region. HR2,

which corresponds to the longest conserved region in the *BRCA2* protein [37], is of major importance for the *BRCA2* protein stability because of DSS1 (for “deleted in split hand/split foot protein 1”) protein binding region [38]. The strong physical interaction between DSS1 and *BRCA2* seems to be crucial for *BRCA2* function in DNA double-strand break repair. It has been postulated that DSS1 may regulate the accessibility of the DNA binding sites on *BRCA2* [38]. Therefore, a mutation in that region with even partial conservation may lead to a truncated but potentially stable protein. This stable truncated protein might have a dominant negative effect on the wild-type protein.

Our results on the effect of exposure to low-dose radiation due to chest X-ray are consistent with two [11, 12] of the five studies [11–15] where a significantly increased risk of BC was found.

The limitations in interpreting our results are as discussed in Andrieu et al. [12], since the study design and methodology are the same. In spite of the fact that our findings and the data set of Andrieu et al. overlap for 319 subjects and thus HRs are not independent, the BC risk associated with chest X-ray exposure in our report is about 2.5 times higher than that given by Andrieu et al. [12]

(HR = 1.56, 95% CI = 1.00–2.40). This difference may be due to the fact that our study subjects were more often exposed to chest X-ray (at least one period ≥ 5 X-rays: 57 vs. 45% in Andrieu et al.) and more often exposed before age 20 (81 vs. 59% in Andrieu et al.). In addition, the risk of BC associated with chest X-rays exposure in GENEPSO *BRCA1/2* mutation carriers is about 3 fold higher than in the general population (e.g. in women under age 50 years, HR = 2.1 when nine or more chest X-rays exposures [39]). More detailed information on level and on age at exposure is needed to specify the risk of BC associated with chest X-ray exposure in the French population of *BRCA1/2* mutation carriers, a population which appears to be particularly exposed.

Unlike in the general population [40], and in accordance with the two studies on *BRCA1/2* mutation carriers [2, 3], our findings do not support a positive association between alcohol intake and BC risk. Although there is no obvious hypothesis to observe an association between alcohol intake and BC risk limited to some mutation positions, our findings suggest such an association for mutations located outside LR2 or HR2. Nevertheless, this observation may be due to chance and should first be replicated in other and larger data sets.

Unlike in the general population, where no consistency in association between smoking and BC risk was found (e.g. [40]), we found a twofold increased risk of BC among those who do not drink alcohol. Studies that have examined the effect of smoking on BC in *BRCA* mutation carriers gave different results. Some reported a null association [4–7], two reported a protective association [8, 9], and two reported a positive association [5, 10], only among *BRCA1* carriers with a past history of smoking in Ginsburg et al. [5]. Boyd et al. [10] have suggested that using prevalent cases may have biased results toward a null association or even toward a protective association if women who smoke are more likely to die after a diagnosis of BC than women with BC who do not smoke. An association between smoking and BC risk among *BRCA1/2* mutation carriers is supported by our findings. We found that BC risk increases in subjects smoking more than 21 pack-years and decreases as time since last use increases. Moreover, because of the importance of *BRCA1* and *BRCA2* in DNA repair, *BRCA1/2* mutation carriers may be more sensitive to carcinogens contained in cigarette smoke than the general population.

Conclusions

This study describes a new region in *BRCA2* with a potential high risk of BC. The identification of this region may have implications for the clinical management of *BRCA2* mutation carriers. This study also indicates an important

association between the radiation exposure from chest X-rays and BC risk in French *BRCA1/2* mutation carriers that is of greater magnitude than the association seen in the general population and in other *BRCA1/2* mutation carrier populations. These results have implications regarding the appropriate use of medical imaging in carriers. Furthermore, our findings point to a positive association between the tobacco use and BC risk. If confirmed, these results would provide a practical way for carriers to reduce their risk. This is the first time that the effects of chest X-ray, alcohol use, and tobacco use have been assessed according to the location of the mutation. The power to detect differential effects according to region was low, but may generate hypotheses to be tested on other datasets. Taking into account environmental and lifestyle modifiers, mutation position might be important for the clinical management of *BRCA* carriers and may be helpful in understanding the biology of *BRCA1* and *BRCA2* in BC etiology.

Acknowledgments This GENEPSO study is supported by the Fondation de France and the Ligue Nationale Contre le Cancer. The authors thank Marie-Lise Manche-Thévenot, Claude Picard, and Irwin Piot (hôpital René Huguenin, Saint Cloud, France) who provided technical assistance.

Appendix

GENEPSO Collaborating Centers

Coordinating Center, Hôpital René Huguenin/Institut Curie, Saint Cloud: Catherine Noguès, Emmanuelle Fourme, Rosette Lidereau; Etienne Rouleau, Sandrine Caputo.

Collaborating Centers: Institut Curie, Paris: Dominique Stoppa-Lyonnet, Marion Gauthier-Villars; Bruno Buecher, Institut Gustave Roussy, Villejuif: Olivier Caron; Hôpital René Huguenin/Institut Curie, Saint Cloud: Catherine Noguès, Liliane Demange; Centre Paul Strauss, Strasbourg: Jean-Pierre Fricker; Centre Léon Bérard, Lyon: Christine Lasset, Valérie Bonadona; Centre François Baclesse, Caen: Pascaline Berthet; Hôpital d'Enfants CHU Dijon – Centre Georges François Leclerc, Dijon: Laurence Faivre; Centre Alexis Vautrin, Vandoeuvre-les-Nancy: Elisabeth Luporsi; Centre Antoine Lacassagne, Nice: Marc Frénay; Institut Claudius Regaud, Toulouse: Laurence Gladiéff; Réseau Oncogénétique Poitou Charente, Niort: Paul Gesta; Institut Paoli-Calmettes, Marseille: Hagay Sobol, François Eisinger, Laetitia Huiart; Institut Bergonié, Bordeaux: Michel Longy; Centre Eugène Marquis, Rennes: Catherine Dugast; GH Pitié Salpêtrière, Paris: Chrystelle Colas, Florent Soubrier; CHU Arnaud de Villeneuve, Montpellier: Isabelle Coupier, Pascal Pujol; Centres Paul Papin, and Catherine de Sienné, Angers, Nantes: Alain Lortholary; Centre Oscar Lambret, Lille: Philippe Vennin,

Claude Adenis; Institut Jean Godinot, Reims: Tan Dat Nguyen; Centre René Gauducheau, Nantes: Capucine Delnatte; Centre Henri Becquerel, Rouen: Annick Rossi, Julie Tinat, Isabelle Tennevet; Hôpital Civil, Strasbourg: Jean-Marc Limacher, Christine Maugard; Hôpital Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand: Yves-Jean Bignon; Polyclinique Courlancy, Reims: Liliane Demange; Clinique Sainte Catherine, Avignon: Hélène Dreyfus; Hôpital Saint-Louis, Paris: Odile Cohen-Haguenaer; CHRU Dupuytren, Limoges: Brigitte Gilbert; Couple-Enfant-CHU de Grenoble: Dominique Leroux; Hôpital de la Timone, Marseille: Hélène Zattara-Cannoni; Inserm U900, Ecole des Mines de Paris, ParisTech, Service de Biostatistiques, Institut Curie, Paris: Nadine Andrieu; Inserm U535, Villejuif: Catherine Bonaïti; Inserm U379, Marseille: Claire Julian-Reynier.

References

- Antoniou A, Pharoah PD, Narod S, Risch HA, Eyfjord JE, Hopper JL, Loman N, Olsson H, Johannsson O, Borg A, Pasini B, Radice P, Manoukian S, Eccles DM, Tang N, Olah E, Anton-Culver H, Warner E, Lubinski J, Gronwald J, Gorski B, Tulinius H, Thorlacius S, Eerola H, Nevanlinna H, Syrjäkoski K, Kallioniemi OP, Thompson D, Evans C, Peto J, Lalloo F, Evans DG, Easton DF (2003) Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case Series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies. *Am J Hum Genet* 72:1117–1130
- McGuire V, John EM, Felberg A, Haile RW, Boyd NF, Thomas DC, Jenkins MA, Milne RL, Daly MB, Ward J, Terry MB, Andrulis IL, Knight JA, Godwin AK, Giles GG, Southey M, West DW, Hopper JL, Whittemore AS (2006) No increased risk of breast cancer associated with alcohol consumption among carriers of BRCA1 and BRCA2 mutations ages <50 years. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 15:1565–1567
- Moorman PG, Iversen ES, Marcom PK, Marks JR, Wang F, Lee E, Ursin G, Rebbeck TR, Domchek SM, Arun B, Susswein L, Isaacs C, Garber JE, Visvanathan K, Griffin CA, Sutphen R, Brzosowicz J, Gruber S, Finkelstein DM, Schildkraut JM (2010) Evaluation of established breast cancer risk factors as modifiers of BRCA1 or BRCA2: a multi-center case-only analysis. *Breast Cancer Res Treat* 124:441–451
- Ghadirian P, Lubinski J, Lynch H, Neuhausen SL, Weber B, Isaacs C, Baruch RG, Randall S, Ainsworth P, Friedman E, Horsman D, Tonin P, Foulkes WD, Tung N, Sun P, Narod SA (2004) Smoking and the risk of breast cancer among carriers of BRCA mutations. *Int J Cancer* 110:413–416
- Ginsburg O, Ghadirian P, Lubinski J, Cybulski C, Lynch H, Neuhausen S, Kim-Sing C, Robson M, Domchek S, Isaacs C, Klijn J, Armel S, Foulkes WD, Tung N, Moller P, Sun P, Narod SA (2009) Smoking and the risk of breast cancer in BRCA1 and BRCA2 carriers: an update. *Breast Cancer Res Treat* 114: 127–135
- Nkondjock A, Robidoux A, Paredes Y, Narod SA, Ghadirian P (2006) Diet, lifestyle and BRCA-related breast cancer risk among French-Canadians. *Breast Cancer Res Treat* 98:285–294
- Gronwald J, Byrski T, Huzarski T, Cybulski C, Sun P, Tulman A, Narod SA, Lubinski J (2006) Influence of selected lifestyle factors on breast and ovarian cancer risk in BRCA1 mutation carriers from Poland. *Breast Cancer Res Treat* 95:105–109
- Brunet JS, Ghadirian P, Rebbeck TR, Lerman C, Garber JE, Tonin PN, Abrahamson J, Foulkes WD, Daly M, Wagner-Costalas J, Godwin A, Olopade OI, Moslehi R, Liede A, Futreal PA, Weber BL, Lenoir GM, Lynch HT, Narod SA (1998) Effect of smoking on breast cancer in carriers of mutant BRCA1 or BRCA2 genes. *J Natl Cancer Inst* 90:761–766
- Colilla S, Kantoff PW, Neuhausen SL, Godwin AK, Daly MB, Narod SA, Garber JE, Lynch HT, Brown M, Weber BL, Rebbeck TR (2006) The joint effect of smoking and AIB1 on breast cancer risk in BRCA1 mutation carriers. *Carcinogenesis* 27:599–605
- Breast Cancer Family Registry; Kathleen Cunningham Consortium for Research into Familial Breast Cancer (Australasia); Ontario Cancer Genetics Network (Canada) (2008) Smoking and risk of breast cancer in carriers of mutations in BRCA1 or BRCA2 aged less than 50 years. *Breast Cancer Res Treat* 109:67–75
- Gronwald J, Pijpe A, Byrski T, Huzarski T, Stawicka M, Cybulski C, van Leeuwen F, Lubinski J, Narod SA (2008) Early radiation exposures and BRCA1-associated breast cancer in young women from Poland. *Breast Cancer Res Treat* 112:581–584
- Andrieu N, Easton DF, Chang-Claude J, Rookus MA, Brohet R, Cardis E, Antoniou AC, Wagner T, Simard J, Evans G, Peock S, Fricker JP, Nogues C, Van't Veer L, van Leeuwen FE, Goldgar DE (2006) Effect of chest X-rays on the risk of breast cancer among BRCA1/2 mutation carriers in the international BRCA1/2 carrier cohort study: a report from the EMBRACE, GENEPSO, GEO-HEBON, and IBCCS Collaborators' Group. *J Clin Oncol* 24:3361–3366
- Goldfrank D, Chuai S, Bernstein JL, Ramon YC, Lee JB, Alonso MC, Diez O, Baiget M, Kauff ND, Offit K, Robson M (2006) Effect of mammography on breast cancer risk in women with mutations in BRCA1 or BRCA2. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 15:2311–2313
- Narod SA, Lubinski J, Ghadirian P, Lynch HT, Moller P, Foulkes WD, Rosen B, Kim-Sing C, Isaacs C, Domchek S, Sun P (2006) Screening mammography and risk of breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: a case-control study. *Lancet Oncol* 7:402–406
- Millikan RC, Player JS, Decotret AR, Tse CK, Keku T (2005) Polymorphisms in DNA repair genes, medical exposure to ionizing radiation, and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 14:2326–2334
- Gayther SA, Mangion J, Russell P, Seal S, Barfoot R, Ponder BA, Stratton MR, Easton D (1997) Variation of risks of breast and ovarian cancer associated with different germline mutations of the BRCA2 gene. *Nat Genet* 15:103–105
- Thompson D, Easton D (2001) Variation in cancer risks, by mutation position, in BRCA2 mutation carriers. *Am J Hum Genet* 68:410–419
- Thompson D, Easton D (2002) Variation in BRCA1 cancer risks by mutation position. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 11:329–336
- Lubinski J, Phelan CM, Ghadirian P, Lynch HT, Garber J, Weber B, Tung N, Horsman D, Isaacs C, Monteiro AN, Sun P, Narod SA (2004) Cancer variation associated with the position of the mutation in the BRCA2 gene. *Fam Cancer* 3:1–10
- Risch HA, McLaughlin JR, Cole DE, Rosen B, Bradley L, Kwan E, Jack E, Vesprini DJ, Kuperstein G, Abrahamson JL, Fan I, Wong B, Narod SA (2001) Prevalence and penetrance of germline BRCA1 and BRCA2 mutations in a population series of 649 women with ovarian cancer. *Am J Hum Genet* 68:700–710
- Risch HA, McLaughlin JR, Cole DE, Rosen B, Bradley L, Fan I, Tang J, Li S, Zhang S, Shaw PA, Narod SA (2006) Population

- BRCA1 and BRCA2 mutation frequencies and cancer penetrances: a kin-cohort study in Ontario, Canada. *J Natl Cancer Inst* 98:1694–1706
22. Evans DG, Shenton A, Woodward E, Lalloo F, Howell A, Maher ER (2008) Penetrance estimates for BRCA1 and BRCA2 based on genetic testing in a Clinical Cancer Genetics service setting: risks of breast/ovarian cancer quoted should reflect the cancer burden in the family. *BMC Cancer* 8:155
 23. Begg CB, Haile RW, Borg A, Malone KE, Concannon P, Thomas DC, Langholz B, Bernstein L, Olsen JH, Lynch CF, Anton-Culver H, Capanu M, Liang X, Hummer AJ, Sima C, Bernstein JL (2008) Variation of breast cancer risk among BRCA1/2 carriers. *JAMA* 299:194–201
 24. Schouten JP, McElgunn CJ, Waaijer R, Zwiijnenburg D, Diepvens F, Pals G (2002) Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucleic Acids Res* 30:e57
 25. Casilli F, Di Rocco ZC, Gad S, Tournier I, Stoppa-Lyonnet D, Frebourg T, Tosi M (2002) Rapid detection of novel BRCA1 rearrangements in high-risk breast-ovarian cancer families using multiplex PCR of short fluorescent fragments. *Hum Mutat* 20:218–226
 26. Barrois M, Bieche I, Mazoyer S, Champeme MH, Bressac-de Paillerets B, Lidereau R (2004) Real-time PCR-based gene dosage assay for detecting BRCA1 rearrangements in breast-ovarian cancer families. *Clin Genet* 65:131–136
 27. Rouleau E, Lefol C, Bourdon V, Coulet F, Noguchi T, Soubrier F, Bieche I, Olschwang S, Sobol H, Lidereau R (2009) Quantitative PCR high-resolution melting (qPCR-HRM) curve analysis, a new approach to simultaneously screen point mutations and large rearrangements: application to MLH1 germline mutations in Lynch syndrome. *Hum Mutat* 30:867–875
 28. Weber J, Miserere S, Champ J, Looten R, Stoppa-Lyonnet D, Viovy JL, Houdayer C (2007) High-throughput simultaneous detection of point mutations and large-scale rearrangements by CE. *Electrophoresis* 28:4282–4288
 29. Gad S, Aurias A, Puget N, Mairal A, Schurra C, Montagna M, Pages S, Caux V, Mazoyer S, Bensimon A, Stoppa-Lyonnet D (2001) Color bar coding the BRCA1 gene on combed DNA: a useful strategy for detecting large gene rearrangements. *Genes Chromosomes Cancer* 31:75–84
 30. Rouleau E, Lefol C, Tozlu S, Andrieu C, Guy C, Copigny F, Nogues C, Bieche I, Lidereau R (2007) High-resolution oligonucleotide array-CGH applied to the detection and characterization of large rearrangements in the hereditary breast cancer gene BRCA1. *Clin Genet* 72:199–207
 31. Antoniou AC, Goldgar DE, Andrieu N, Chang-Claude J, Brohet R, Rookus MA, Easton DF (2005) A weighted cohort approach for analysing factors modifying disease risks in carriers of high-risk susceptibility genes. *Genet Epidemiol* 29:1–11
 32. Dal Maso L, Zucchetto A, Talamini R, Serraino D, Stocco CF, Vercelli M, Falcini F, Franceschi S (2008) Effect of obesity and other lifestyle factors on mortality in women with breast cancer. *Int J Cancer* 123:2188–2194
 33. Hellmann SS, Thygesen LC, Tolstrup JS, Gronbaek M (2010) Modifiable risk factors and survival in women diagnosed with primary breast cancer: results from a prospective cohort study. *Eur J Cancer Prev* 19:366–373
 34. Holmes MD, Murin S, Chen WY, Kroenke CH, Spiegelman D, Colditz GA (2007) Smoking and survival after breast cancer diagnosis. *Int J Cancer* 120:2672–2677
 35. Kwan ML, Kushi LH, Weltzien E, Tam EK, Castillo A, Sweeney C, Caan BJ (2010) Alcohol consumption and breast cancer recurrence and survival among women with early-stage breast cancer: the life after cancer epidemiology study. *J Clin Oncol* 28:4410–4416
 36. Feigelson HS, Calle EE, Robertson AS, Wingo PA, Thun MJ (2001) Alcohol consumption increases the risk of fatal breast cancer (United States). *Cancer Causes Control* 12:895–902
 37. Marston NJ, Richards WJ, Hughes D, Bertwistle D, Marshall CJ, Ashworth A (1999) Interaction between the product of the breast cancer susceptibility gene BRCA2 and DSS1, a protein functionally conserved from yeast to mammals. *Mol Cell Biol* 19:4633–4642
 38. Li J, Zou C, Bai Y, Wazer DE, Band V, Gao Q (2006) DSS1 is required for the stability of BRCA2. *Oncogene* 25:1186–1194
 39. Ma H, Hill CK, Bernstein L, Ursin G (2008) Low-dose medical radiation exposure and breast cancer risk in women under age 50 years overall and by estrogen and progesterone receptor status: results from a case-control and a case-case comparison. *Breast Cancer Res Treat* 109:77–90
 40. Hamajima N, Hirose K, Tajima K, Rohan T, Calle EE, Heath CW Jr, Coates RJ, Liff JM, Talamini R, Chantarakul N, Koetsawang S, Rachawat D, Morabia A, Schuman L, Stewart W, Szklo M, Bain C, Schofield F, Siskind V, Band P, Coldman AJ, Gallagher RP, Hislop TG, Yang P, Kolonel LM, Nomura AM, Hu J, Johnson KC, Mao Y, De Sanjose S, Lee N, Marchbanks P, Ory HW, Peterson HB, Wilson HG, Wingo PA, Ebeling K, Kunde D, Nishan P, Hopper JL, Colditz G, Gajalanski V, Martin N, Parthaisong T, Silpisornkosol S, Theetranont C, Boosiri B, Chutivongse S, Jimakorn P, Virutamasen P, Wongsrichanalai C, Ewertz M, Adami HO, Bergkvist L, Magnusson C, Persson I, Chang-Claude J, Paul C, Skegg DC, Spears GF, Boyle P, Evtifeeva T, Daling JR, Hutchinson WB, Malone K, Noonan EA, Stanford JL, Thomas DB, Weiss NS, White E, Andrieu N, Bremond A, Clavel F, Gairard B, Lansac J, Piana L, Renaud R, Izquierdo A, Viladiu P, Cuevas HR, Ontiveros P, Palet A, Salazar SB, Aristizabel N, Cuadros A, Tryggvadottir L, Tulinius H, Bachelot A, Le MG, Peto J, Franceschi S, Lubin F, Modan B, Ron E, Wax Y, Friedman GD, Hiatt RA, Levi F, Bishop T, Kosmelj K, Primic-Zakelj M, Ravnihar B, Stare J, Beeson WL, Fraser G, Bullbrook RD, Cuzick J, Duffy SW, Fentiman IS, Hayward JL, Wang DY, McMichael AJ, McPherson K, Hanson RL, Leske MC, Mahoney MC, Nasca PC, Varma AO, Weinstein AL, Moller TR, Olsson H, Ranstam J, Goldbohm RA, van den Brandt PA, Apelo RA, Baens J, de la Cruz JR, Javier B, Lacaya LB, Ngelangel CA, La Vecchia C, Negri E, Marubini E, Ferraroni M, Gerber M, Richardson S, Segala C, Gatei D, Kenya P, Kungu A, Mati JG, Brinton LA, Hoover R, Schairer C, Spirtas R, Lee HP, Rookus MA, van Leeuwen FE, Schoenberg JA, McCredie M, Gammon MD, Clarke EA, Jones L, Neil A, Vessey M, Yeates D, Appleby P, Banks E, Beral V, Bull D, Crossley B, Goodill A, Green J, Hermon C, Key T, Langston N, Lewis C, Reeves G, Collins R, Doll R, Peto R, Mabuchi K, Preston D, Hannaford P, Kay C, Rosero-Bixby L, Gao YT, Jin F, Yuan JM, Wei HY, Yun T, Zhiheng C, Berry G, Cooper BJ, Jelihevsky T, MacLennan R, Shearman R, Wang QS, Baines CJ, Miller AB, Wall C, Lund E, Stalsberg H, Shu XO, Zheng W, Katsouyanni K, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Dabancens A, Martinez L, Molina R, Salas O, Alexander FE, Anderson K, Folsom AR, Hulka BS, Bernstein L, Enger S, Haile RW, Paganini-Hill A, Pike MC, Ross RK, Ursin G, Yu MC, Longnecker MP, Newcomb P, Bergkvist L, Kalache A, Farley TM, Holck S, Meirik O (2002) Alcohol, tobacco and breast cancer—collaborative reanalysis of individual data from 53 epidemiological studies, including 58,515 women with breast cancer and 95,067 women without the disease. *Br J Cancer* 87:1234–1245

RESEARCH ARTICLE

Open Access

Variation in breast cancer risk associated with factors related to pregnancies according to truncating mutation location, in the French National BRCA1 and BRCA2 mutations carrier cohort (GENEPSO)

Julie Lecarpentier^{1,2,3}, Catherine Noguès⁴, Emmanuelle Mouret-Fourme⁴, Marion Gauthier-Villars⁵, Christine Lasset^{6,7,8}, Jean-Pierre Fricker⁹, Olivier Caron¹⁰, Dominique Stoppa-Lyonnet^{5,11,12}, Pascaline Berthet¹³, Laurence Faivre^{14,15}, Valérie Bonadona^{6,7,8}, Bruno Buecher⁵, Isabelle Coupier^{16,17}, Laurence Gladiéff¹⁸, Paul Gesta¹⁹, François Eisinger^{20,21}, Marc Frénay²², Elisabeth Luporsi²³, Alain Lortholary²⁴, Chrystelle Colas²⁵, Catherine Dugast²⁶, Michel Longy²⁷, Pascal Pujol¹⁶, Julie Tinat²⁸, GENEPSO, Rosette Lidereau²⁹ and Nadine Andrieu^{1,2,3*}

Abstract

Introduction: Mutations in *BRCA1* and *BRCA2* confer a high risk of breast cancer (BC), but the magnitude of this risk seems to vary according to the study and various factors. Although controversial, there are data to support the hypothesis of allelic risk heterogeneity.

Methods: We assessed variation in BC risk according to factors related to pregnancies by location of mutation in the homogeneous risk region of *BRCA1* and *BRCA2* in 990 women in the French study GENEPSO by using a weighted Cox regression model.

Results: Our results confirm the existence of the protective effect of an increasing number of full-term pregnancies (FTPs) toward BC among *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers (≥ 3 versus 0 FTPs: hazard ratio (HR) = 0.51, 95% confidence interval (CI) = 0.33 to 0.81). Additionally, the HR shows an association between incomplete pregnancies and a higher BC risk, which reached 2.39 (95% CI = 1.28 to 4.45) among women who had at least three incomplete pregnancies when compared with women with zero incomplete pregnancies. This increased risk appeared to be restricted to incomplete pregnancies occurring before the first FTP (HR = 1.77, 95% CI = 1.19 to 2.63). We defined the TMAP score (defined as the Time of Breast Mitotic Activity during Pregnancies) to take into account simultaneously the opposite effect of full-term and interrupted pregnancies. Compared with women with a TMAP score of less than 0.35, an increasing TMAP score was associated with a statistically significant increase in the risk of BC (P trend = 0.02) which reached 1.97 (95% CI = 1.19 to 3.29) for a TMAP score >0.5 (versus TMAP ≤ 0.35). All these results appeared to be similar in *BRCA1* and *BRCA2*. Nevertheless, our results suggest a variation in BC risk associated with parity according to the location of the mutation in *BRCA1*. Indeed, parity seems to be associated with a significantly decreased risk of BC only among women with a mutation in the central region of *BRCA1* (low-risk region) (≥ 1 versus 0 FTP: HR = 0.27, 95% CI = 0.13 to 0.55) ($P_{\text{interaction}} < 10^{-3}$).

Conclusions: Our findings show that, taking into account environmental and lifestyle modifiers, mutation position might be important for the clinical management of *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers and could also be helpful in understanding how *BRCA1* and *BRCA2* genes are involved in BC.

* Correspondence: nadine.andrieu@curie.net

¹Biostatistics, Institut Curie, rue d'Ulm 26, Paris cedex 05, 75248, France
Full list of author information is available at the end of the article

Introduction

Carriers of mutations in the *BRCA1* and *BRCA2* genes are at very high risk of developing breast cancer (BC) and ovarian cancer. Estimates of the lifetime risk of developing BC for *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers range from 30% to 80% and from 9% to 84%, respectively [1]. Incomplete penetrance and the range of these risk estimates suggest the existence within families of genetic or shared environmental or lifestyle factors that modify the risk of BC.

Many studies have established that women who had their first full-term pregnancy (FTP) at a young age have a lower risk of BC than nulliparous women or women who had their first FTP when they were older than 30 years of age; additional pregnancies are associated with even lower risks (for example, [2,3]). Long-term breastfeeding is also associated with a decreased risk of BC in the general population [4]. Controversial conclusions have been drawn from studies that have examined the risk of BC associated with incomplete pregnancies. While some older studies found a possible positive association between interrupted pregnancies and BC risk [5-9], the most recent meta-analyses concluded that an increased number of either spontaneous or induced abortions was not associated with an increased BC risk [10-12].

The few studies that have assessed the risk of BC associated with incomplete pregnancies [13-15], breast-feeding [13,16-19] and parity [13,15,16,20-23] among *BRCA1/2* mutations carriers, have shown inconsistent results. For parity, studies have found either no association [16,20,21] or a positive [15] or negative association [13,22] with BC risk. Among studies which have performed analyses according to the gene mutated, one has reported a differential effect of parity on BC risk [23] and one, a differential effect of age at first FTP [13].

Some authors have suggested that the effect of pregnancies in BC development is related to the breast mitotic activity, driven by estrogen and progesterone exposure [24]. This activity appears high during the first three months of pregnancy and is followed by a dramatic decrease and by the differentiation of breast tissue during the last six months [25]. Although lasting and high mitotic activity and incomplete differentiation of breast tissue may have a critical effect on cells with inherited mutations, no study has assessed the effect of breast mitotic activity during pregnancy in *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers.

Genotype-phenotype correlations have been found in both *BRCA1* and *BRCA2* showing heterogeneity in BC risk according to the location of the mutation (for example, [26-29]). Moreover, inconsistencies in the effect of pregnancy-related factors among *BRCA1* and *BRCA2*

mutation carriers between studies could be explained by an additional heterogeneity due to a differential effect of these factors according to location of the mutation. Thus, we first studied the effect of pregnancy-related factors on the risk of BC for *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers taken together, and by gene. Then we studied the effect of parity, incomplete pregnancies and breast-feeding for homogeneous regions previously described in our data [30] where a central low BC risk region in *BRCA1* and *BRCA2* was confirmed [27,28,31-34], and a new high-risk region in *BRCA2* was described [30].

Materials and methods

Data

The GENEPSO study was initiated in 2000 to estimate the risk of breast, ovarian, and other cancers in *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers and to assess potential risk-modifying factors, either lifestyle or genetic. Subjects were ascertained from the family cancer clinics of the Genetic and Cancer Group of Unicancer. Any woman who was known to carry a deleterious mutation in the *BRCA1* or *BRCA2* gene was eligible, including those diagnosed with cancer and those currently unaffected. They had to be at least 18 years old, mentally capable of giving informed consent to participate in the study, and had been counseled about their mutation status. The research protocol was approved by the relevant ethics committees, and all participants provided written informed consent.

The study population was based on the women enrolled in the GENEPSO study from 2000 to 2010. A total of 1,337 women (from 987 different families) were recruited, 863 (65%) were *BRCA1* mutation carriers and 474 (35%) were *BRCA2* mutation carriers. To assess variation in BC risk according to mutation position, a sample with one subject per family was randomly selected to avoid overmatching on the mutation, except for one family where two related women carried two different mutations and thus were considered independent. Additionally, two women were counted twice because they carried two mutations in *BRCA1* and *BRCA2*. Thus, 990 women were considered for assessing risk factor main effects and for the analyses by mutation location.

A standardized questionnaire on reproductive factors and lifestyle factors was administered to the study subjects by mail. The questionnaire collected detailed information on pregnancy history. Subjects who indicated that they had at least one pregnancy were asked to provide, for each pregnancy, the month and year when the pregnancy started or was terminated, its duration, and its outcome (live birth, still birth, miscarriage, induced abortion), and the duration of breast-feeding, if applicable.

Genotyping

The mutation screening strategy was similar for all the clinics, that is, the youngest living affected family member was tested first and, if a *BRCA1* or/and *BRCA2* mutation was found, affected and unaffected family members were offered testing. Mutations were defined as deleterious when their putative protein products were truncated, that is, nonsense mutations and frameshift mutations (nucleotide insertions or deletions, large gene rearrangements, and splicing defects). Some mutations, without disruption of the reading frame, were considered deleterious when they were classified deleterious by the ENIGMA group (Evidence-based network for the interpretation of germline mutant alleles) [35].

The full coding sequences and the exon-intron junctions of the *BRCA1* and *BRCA2* genes were screened for variants, based on pre-screening (denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE), single strand conformation polymorphism (SSCP), protein truncation assay (PTA), denaturing high performance liquid chromatography (dHPLC), high resolution melting (HRM), or enhanced mismatch mutation analysis (EMMA)) and sequencing. Several large rearrangements were identified by large cDNA sequencing, multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) [36], quantitative multiplex PCR of short fragments (QMPSF) [37], quantitative PCR (qPCR) [38], qPCR HRM [39], EMMA [40], bar code screening [41] or dedicated array comparative genomic hybridization (CGH) [42]. Mutation description was provided by each French laboratory, coded and standardized according to the international nomenclature [See Additional file 1 for the distribution of mutations in the study].

Statistical methods

The data presented here were analyzed using a modified Cox proportional hazards regression model. Standard Cox regression may lead to biased estimates of the hazard ratio (HR) because the women in this study were taken from high-risk families qualifying for genetic testing. The disease status may, therefore, have affected the likelihood of ascertainment and selection leading to an over-sampling of affected women. To correct for this potential bias, the Cox regression analyses were performed using the weighted regression approach described by Antoniou *et al.* [43]. Individuals were weighted such that the observed BC incidence rates in the study sample were consistent with established BC risk estimates for *BRCA1* and *BRCA2* carriers [1]. The affected mutation carriers were underweighted (weights <1) and the unaffected mutation carriers were overweighted (weights >1). The weights were applied to all person-years of each subject in the modified Cox model.

Subjects were followed up from birth and censored at the date of diagnosis, for women who were affected by

any cancer, or the date of prophylactic bilateral mastectomy or interview, for unaffected women.

Parity, breast-feeding, incomplete pregnancies, menopausal status and oral contraceptive use changed over time, so it was analyzed as a time-dependent covariate and cumulative over life time. All analyses were stratified by period of birth (before 1940, 1940 to 1949, 1950 to 1959, 1960 or later). In addition, because menopausal status, oral contraceptive use and gene may substantially modify the risk of BC and thus be a potential confounder, analyses were adjusted for these factors.

To avoid the potential bias due to BC detected during a pregnancy which may cause a bias either toward or away from the null depending on the effect of pregnancy on the risk of BC, pregnancies were included only if they occurred at least one year before the age at censure. Thus, we excluded ten pregnancies, seven among affected women and three among unaffected women.

To assess the variation of BC risk associated with pregnancies and breast-feeding by location of truncating mutations in *BRCA1* and *BRCA2*, we used regions previously defined as homogeneous in BC risk by Lecarpentier *et al.* We considered two groups of mutation in *BRCA1*, those located in LR1 (for 'low-risk region in *BRCA1*': codons 374 to 1161) and those located outside LR1. In *BRCA2*, we considered three groups of mutation in *BRCA2*, those located in LR2 (for 'low-risk region in *BRCA2*': codons 957 to 1827), located in HR2 (for 'high-risk region in *BRCA2*': codons 2546 to 2968) and those located outside LR2 and HR2 [30]. Heterogeneity in risk by mutation location was assessed by testing the interaction between mutation location and the risk factor of interest.

All statistical analyses were two-sided and were performed using the STATA statistical package (version 10; Stata Corporation, College Station TX).

Results

Characteristics of the whole cohort and of one-woman-per-family cohorts are listed in Table 1. A total of 563 women had been diagnosed with BC at the time of their interview, but only 499 of them were considered as affected in this analysis after censoring. The remaining 838 women were censored at age of diagnosis of ovarian cancer (N = 89), at diagnosis of another cancer (N = 16), at prophylactic bilateral mastectomy (N = 11), or at interview (N = 722). The average age at censoring for the 838 participants without BC was 40.0 years (standard deviation (SD) = 0.4), which is similar to the age at diagnosis of the women with BC (41.0 years, SD = 0.4), although the age at interview was substantially higher for the BC patients, reflecting the pattern of genetic testing among participants. Sampling of one woman per family did not change any characteristic distribution or the average of age at censure (39.8 years, SD = 0.5 and 40.4 years,

Table 1 Characteristics of the cohort study of BRCA1/2 mutation carriers.

Characteristics	Whole cohort						One woman per family sample cohort					
	All women (N = 1337)		With BC (N = 499)		Without BC (N = 838)		All women (N = 990)		With BC (N = 379)		Without BC (N = 611)	
	No	%	No	%	No	%	No	%	No	%	No	%
Mutation												
BRCA1	863	64.5	332	66.5	531	63.4	635	64.1	240	63.3	395	64.6
BRCA2	474	35.5	167	33.5	307	36.6	355	35.9	139	36.7	216	35.4
Age at interview, years												
Mean	44.1		49.4		41.0		43.7		48.6		40.7	
SD	0.3		0.5		0.4		0.4		0.5		0.5	
Age at diagnosis/censoring, years												
Mean	40.4		41.0		40.0		40.1		40.4		39.8	
SD	0.3		0.4		0.4		0.3		0.5		0.5	
<30	196	14.7	34	6.8	162	19.3	142	14.3	29	7.7	113	18.5
30 to 39	487	36.4	205	41.1	282	33.7	371	37.5	159	42.0	212	34.7
40 to 49	403	30.1	176	35.3	227	27.1	306	30.9	133	35.1	173	28.3
50 to 59	180	13.5	67	13.4	113	13.5	126	12.7	47	12.4	79	12.9
≥60	71	5.3	17	3.4	54	6.4	45	4.5	11	2.9	34	5.6
Year of birth												
<1950	354	26.5	201	40.3	153	18.3	237	23.9	139	36.7	98	16.0
1950 to 1959	324	24.2	165	33.1	159	19.0	248	25.1	128	33.8	120	19.6
1960 to 1969	351	26.3	119	23.8	232	27.7	282	28.5	99	26.1	183	30.0
≥1970	308	23.0	14	2.8	294	35.1	223	22.5	13	3.4	210	34.4
Oral contraceptive use												
Never	261	19.5	122	24.4	139	16.6	180	18.2	86	22.7	94	15.4
Ever	1,058	79.1	373	74.7	685	81.7	798	80.6	290	76.5	508	83.1
Missing	18	1.3	4	0.8	14	1.7	12	1.2	3	0.8	9	1.5
Number of full-term pregnancies												
0	293	21.9	68	13.6	225	26.8	217	21.9	58	15.3	159	26.0
1	250	18.7	108	21.6	142	16.9	196	19.8	90	23.7	106	17.3
2	452	33.8	182	36.5	270	32.2	346	34.9	139	36.7	207	33.9
≥3	342	25.6	141	28.3	201	24.0	231	23.3	92	24.3	139	22.7
Missing	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Induced abortion												
0	1,060	79.3	383	76.8	677	80.8	776	78.4	286	75.5	490	80.2
1	213	15.9	81	16.2	132	15.8	168	17.0	67	17.7	101	16.5
2	44	3.3	22	4.4	22	2.6	31	3.1	15	4.0	16	2.6
≥3	12	0.9	8	1.6	4	0.5	9	0.9	7	1.8	2	0.3
Missing	8	0.6	5	1.0	3	0.4	6	0.6	4	1.1	2	0.3
Spontaneous abortion												
0	1,085	81.2	387	77.6	698	83.3	791	79.9	293	77.3	498	81.5
1	173	12.9	78	15.6	95	11.3	144	14.5	64	16.9	80	13.1
2	50	3.7	22	4.4	28	3.3	34	3.4	12	3.2	22	3.6
≥3	21	1.6	8	1.6	13	1.6	16	1.6	7	1.8	9	1.5
Missing	8	0.6	4	0.8	4	0.5	5	0.5	3	0.8	2	0.3
Breast-feeding												
Never	439	32.8	187	37.5	252	30.1	308	31.1	130	34.3	178	29.1
Ever	568	42.5	230	46.1	338	40.3	442	44.6	182	48.0	260	42.6
Missing	37	2.8	14	2.8	23	2.7	23	2.3	9	2.4	14	2.3
Nulliparous	293	21.9	68	13.6	225	26.8	217	21.9	58	15.3	159	26.0
Menopausal status												
Premenopausal	1,068	79.9	404	81.0	664	79.2	795	80.3	312	82.3	483	79.1
Postmenopausal	240	18.0	86	17.2	154	18.4	171	17.3	60	15.8	111	18.2
Unknown	29	2.2	9	1.8	20	2.4	24	2.4	7	1.8	17	2.8

BC, breast cancer; N, number; SD, standard deviation.

SD = 0.5, respectively, for women without and with BC). Year of birth, number of full-term and incomplete pregnancies, breast-feeding, menopausal status, and oral contraceptive use are also described. There was a total of 39,666 person-years of observation.

The estimated risks of BC associated with parity, age at first FTP, and history of breast-feeding from the weighted Cox regression analysis are summarized in Table 2, both for the entire sample and for *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers separately. We also analyzed the parity according to attained age (40 years or younger versus older than 40 years).

Overall, compared with nulliparous women, parous women had a slightly lower but non significant risk of BC (HR = 0.77, 95% CI = 0.53 to 1.13). As the number of FTPs increased there was a statistically significant decrease in the risk of BC (P trend < 10^{-3}). The reduction in risk was estimated with an HR = 0.51 (95% CI = 0.33 to 0.81) for women with at least three FTPs. This association remained significant only for the women who were older than 40 years (for women with at least three FTPs, HR = 0.35, 95% CI = 0.17 to 0.70). Among parous women, age at first FTP seems to be associated with BC risk. Indeed, women who had their first FTP when they were 25 years or older had a lower HR point estimate of BC than women who had their first FTP when they were younger than 20 years (between age 25 and 30 versus before age 20, HR = 0.62, 95% CI = 0.36 to 1.06 and after age 30 versus before age 20, HR = 0.67, 95% CI = 0.36 to 1.23). The reduction in risk associated with parity and age at first FTP was similar for carriers of *BRCA1* and *BRCA2* mutations. After adjusting for parity, we observed no association between ever having breast-fed and BC risk, either for the entire sample or separately for *BRCA1* or *BRCA2* mutation carriers. There was also no statistically significant association between duration of breast-feeding and BC risk even for long duration (that is, ≥ 10 months) (data not shown).

The estimated risks of BC associated with incomplete pregnancies, from the weighted Cox regression analysis, are summarized in Table 3. First, HR point estimates suggest an association between incomplete pregnancy (induced abortions and miscarriages considered together) and a higher BC risk in the entire sample (≥ 1 versus 0: HR = 1.28, 95% CI = 0.98 to 1.67), with a maximum risk among women who had at least three incomplete pregnancies (≥ 3 versus 0: HR = 2.39, 95% CI = 1.28 to 4.45). HR point estimates seem similar whatever the type of incomplete pregnancy (induced abortions or miscarriages) but were not significant. However, as the number of incomplete pregnancies increased, there was a statistically significant increase in the risk of BC for induced abortions (P trend = 0.02), but not for miscarriages. The maximum risk was observed among women who had at least three

induced terminations (≥ 3 versus 0: HR = 3.84, 95% CI = 1.52 to 9.66). Among women who had induced terminations, an age of 20 years or older at first incomplete pregnancy led to a lower risk of BC than an age younger than 20 years (after age 20 versus before HR = 0.50, 95% CI = 0.28 to 0.90). When we considered this risk with respect to the first FTP, the association previously found persisted, but only before the first FTP (HR = 1.77, 95% CI = 1.19 to 2.63). Interestingly, point estimates associated with having miscarriages in the first three months of pregnancy were similar to those associated with induced termination (HR = 1.35, 95% CI = 0.95 to 1.93 and HR = 1.30, 95% CI = 0.93 to 1.82, respectively). There were no differences when stratified by gene.

To take into account simultaneously the contrary effect on BC risk of FTPs and pregnancies interrupted within the first three months, we determined the TMAP score defined as the Time of breast Mitotic Activity during Pregnancies. The TMAP score is the sum of pregnancies with a duration greater than or equal to three months multiplied by three plus the sum of the duration (in months) of each pregnancy with a duration of less than three months divided by the sum of the duration of each pregnancy whatever the outcome of the pregnancy. The TMAP score is a time-dependent variable.

Compared with women with a TMAP score of less than 0.35, an increasing TMAP score was associated with a statistically significant increase in the risk of BC (P trend = 0.02) and reached 1.97 (95% CI = 1.19-3.29) when the TMAP score was greater than 0.5.

Estimated risks of BC associated with parity, age at first FTP, and history of breast-feeding according to the mutation location were assessed by regions of *BRCA1* and *BRCA2* previously defined as homogeneous for the risk of BC [30]. Among *BRCA2* mutation carriers, no variation of BC risk was found (data not shown). Estimated risks of BC associated with parity and incomplete pregnancy by homogeneous region in *BRCA1* are shown in Table 4. Parity seems to be associated with a significantly decreased risk of BC only among women with a mutation in LR1 (≥ 1 versus 0 FTP: HR = 0.27, 95% CI = 0.13 to 0.55) ($P_{\text{interaction}} < 10^{-3}$). Similarly, an increasing number of FTPs was associated with a statistically significant decrease in the risk of BC only in LR1 (HR = 0.20, 95% CI = 0.08 to 0.49 for women with at least three FTPs compared with nulliparous women). This protective effect persists whatever the age (HR = 0.33, 95% CI = 0.16 to 0.68 and HR = 0.21, 95% CI = 0.09 to 0.51 before and after age 40 respectively). The HR associated with breast-feeding did not differ between LR1 (ever versus never: HR = 0.73, 95% CI = 0.32 to 1.66) and outside LR1 (HR = 0.86, 95% CI = 0.58 to 1.27) (data not shown). There was also no significant interaction between incomplete pregnancy or age at first FTP and mutation location (data not shown).

Table 2 Risk of breast cancer associated with full-term pregnancies and breast feeding.

Reproductive Factors	One woman per family cohort: 39,666 person-years of follow-up					BRCA1 mutation carriers: 25,045 person-years of follow-up					BRCA2 mutation carriers: 14,621 person-years of follow-up				
	Person-years ^a	No. of cases ^a	HR	95% CI	P value	Person-years ^a	No. of cases ^a	HR	95% CI	P value	Person-years ^a	No. of cases ^a	HR	95% CI	P value
Parity ^b															
Nulliparous	25,333	58	1.00			16,215	38	1.00			9,118	20	1.00		
Parous	14,333	321	0.77	0.53-1.13		8,830	202	0.76	0.49-1.19		5,503	119	0.78	0.39-1.55	
No. of full-term pregnancies ^b															
0	25,333	58	1.00			16,215	38	1.00			9,118	20	1.00		
1	4,435	90	1.10	0.72-1.68		2,777	58	1.04	0.63-1.72		1,658	32	1.24	0.59-2.61	
2	5,640	138	0.79	0.52-1.20		3,540	87	0.81	0.50-1.30		2,100	51	0.73	0.35-1.55	
≥3	4,243	92	0.51	0.33-0.81	<10 ⁻³	2,498	56	0.52	0.31-0.89	0.02	1,745	36	0.49	0.22-1.10	0.08
Trend			0.77	0.68-0.88	<10 ⁻³			0.78	0.67-0.91	<10 ⁻³			0.74	0.58-0.95	0.02
No. of full-term pregnancies by attained age ^b															
0	25,333	58	1.00			16,215	38	1.00			9,118	20	1.00		
1-2 before age 40	8,146	131	1.05	0.68-1.63		5,169	88	1.04	0.62-1.77		2,977	43	1.12	0.53-2.37	
≥3 before age 40	2,303	40	0.82	0.48-1.41		1,414	29	0.88	0.46-1.66		889	11	0.64	0.23-1.75	
1-2 after age 40	1,929	97	0.70	0.36-1.36		1,148	57	0.70	0.32-1.50		781	40	0.61	0.19-1.99	
≥3 after age 40	1,940	52	0.35	0.17-0.70	<10 ⁻³	1,084	27	0.34	0.15-0.76	0.01	856	25	0.36	0.11-1.16	0.09
Age at first full-term pregnancy ^c															
< 20 years	1,866	39	1.00			1,217	27	1.00			649	12	1.00		
20-24 years	7,158	152	0.91	0.55-1.50		4,296	93	0.91	0.52-1.61		2,862	59	0.87	0.32-2.34	
25-29 years	3,994	85	0.62	0.36-1.06	0.08	2,492	53	0.57	0.31-1.06	0.08	1,502	32	0.63	0.22-1.80	
≥30 years	1,315	45	0.67	0.36-1.23		825	29	0.64	0.32-1.31		490	16	0.65	0.20-2.13	
Nulliparous	25,333	58	0.41	0.20-0.85	0.02	16,215	38	0.43	0.19-0.97	0.04	9,118	20	0.35	0.09-1.40	
Breast-feeding ^c															
Never	5,962	131	1.00			3,644	87	1.00			2,318	44	1.00		
Ever	7,875	182	1.02	0.76-1.36		4,840	111	0.93	0.66-1.30		3,035	71	1.45	0.84-2.51	
Nulliparous	25,333	58	0.61	0.37-1.02	0.06	16,215	38	0.62	0.33-1.14		9,118	20	0.53	0.21-1.30	

^a Not including missing data. ^b Adjusted for menopausal status (yes, no), oral contraceptives (never, ever), and gene mutated (*BRCA1*, *BRCA2*). ^c Adjusted for parity (0, 1, 2, ≥3), menopausal status (yes, no), oral contraceptives (never, ever), and gene mutated (*BRCA1*, *BRCA2*). HR hazard ratio; CI confidence interval, No., number.

Table 3 Risk of breast cancer associated with incomplete pregnancies and the TMAP score.

Reproductive factors	One woman per family cohort: 39,666 person-years of follow-up					BRCA1 mutation carriers: 25,045 person-years of follow-up					BRCA2 mutation carriers: 14,621 person-years of follow-up				
	Person-years ^a	No. of cases ^a	HR	95% CI	P value	Person-years ^a	No. of cases ^a	HR	95% CI	P value	Person-years ^a	No. of cases ^a	HR	95% CI	P value
Incomplete pregnancies ^b															
Never	33,455	219	1.00			21,291	135	1.00			12,164	84	1.00		
Ever	5,995	155	1.28	0.98-1.67	0.07	3,673	103	1.30	0.95-1.76		2,322	52	1.07	0.64-1.78	
No. of incomplete pregnancies ^b															
0	33,455	219	1.00			21,291	135	1.00			12,164	84	1.00		
1	4,208	103	1.25	0.93-1.69		2,544	70	1.27	0.89-1.82		1,664	33	0.96	0.53-1.73	
2	1,320	32	1.07	0.69-1.66		841	21	1.08	0.65-1.79		479	11	1.01	0.46-2.24	
≥3	467	20	2.39	1.28-4.45	0.01	288	12	2.45	1.19-5.04	0.02	179	8	2.69	0.71-10.3	
Trend			1.19	1.02-1.39	0.03			1.20	1.00-1.43	0.05			1.15	0.84-1.58	
Type of incomplete pregnancies ^b															
No incomplete pregnancies	33,384	219	1.00			21,220	135	1.00			12,164	84	1.00		
Induced abortion only	2,909	71	1.29	0.93-1.81		1,859	50	1.35	0.92-1.99		1,050	21	1.02	0.53-1.96	
Miscarriage only	2,494	65	1.19	0.83-1.72		1,407	41	1.14	0.73-1.78		1,087	24	1.05	0.54-2.04	
Induced abortion and miscarriage	535	18	1.49	0.84-2.65		350	11	1.51	0.79-2.91		185	7	1.43	0.45-4.51	
No. of induced abortions ^b															
0	35,968	286	1.00			22,666	177	1.00			13,302	109	1.00		
1	2,833	66	1.15	0.83-1.60		1,805	47	1.22	0.84-1.78		1,028	19	0.87	0.45-1.68	
2	497	16	1.44	0.74-2.78		322	10	1.59	0.75-3.40		175	6	1.47	0.44-4.88	
≥3	114	7	3.84	1.52-9.66	<10 ⁻³	82	4	3.31	1.13-9.71	0.03	32	3	7.85	1.74-35.5	0.01
Trend			1.28	1.04-1.58	0.02			1.32	1.04-1.67	0.02			1.26	0.81-1.95	
No. of miscarriages ^b															
0	36,419	293	1.00			23,121	186	1.00			13,298	107	1.00		
1	2,273	64	1.21	0.85-1.72		1,321	41	1.20	0.79-1.82		952	23	1.01	0.50-2.02	
2	508	12	0.98	0.48-1.99		301	6	0.69	0.27-1.81		207	6	1.54	0.64-3.67	
≥3	248	7	1.18	0.42-3.30		135	5	1.40	0.44-4.53		113	2	0.86	0.10-7.56	
Trend			1.07	0.87-1.32				1.04	0.81-1.35				1.09	0.75-1.58	
Age at first induced abortion ^c															
<20 years	1,094	32	1.00			662	20	1.00			432	12	1.00		
≥ 20 years	2,350	57	0.50	0.28-0.90	0.02	1,547	41	0.53	0.27-1.02	0.06	803	16	0.40	0.10-1.53	
No induced abortion	35,968	286	0.74	0.31-1.78		22,666	177	0.70	0.27-1.84		13,302	109	1.10	0.12-10.5	
Age at first miscarriage ^c															
<20 years	220	5	1.00			202	5	1.00			18	0			
≥ 20	2,809	78	1.04	0.25-4.28		1,555	47	0.87	0.20-3.73		1,254	31			
No miscarriage	36,419	293	0.81	0.17-3.99		23,121	186	0.69	0.12-3.93		13,298	107			

Table 3 Risk of breast cancer associated with incomplete pregnancies and the TMAP score. (Continued)

Induced abortion relative to the first full-term pregnancy ^b													
No induced abortion	35,964	284	1.00			22,663	175	1.00			13,301	109	1.00
Before first full-term pregnancy	1,835	49	1.77	1.19-2.63	0.01	1,223	33	1.77	1.13-2.77	0.01	612	16	1.88 0.86-4.12
After first full-term pregnancy	1,613	42	0.97	0.65-1.45		989	30	1.14	0.72-1.79		624	12	0.55 0.26-1.18
Miscarriage relative to the first full-term pregnancy ^b													
1.00													
No miscarriage	36,414	291				23,118	186	1.00			13,296	105	1.00
Before first full-term pregnancy	1,138	29	1.07	0.65-1.77		729	20	1.01	0.55-1.84		409	9	0.89 0.36-2.16
After first full-term pregnancy	1,896	56	1.05	0.73-1.51		1,031	32	1.02	0.65-1.60		865	24	1.09 0.57-2.08
Type and length of incomplete pregnancies ^b													
No abortion	33,384	219	1.00			21,220	135	1.00			12,164	84	1.00
Induced abortion only	2,909	71	1.30	0.93-1.82		1,859	50	1.36	0.92-2.00		1,050	21	1.01 0.52-1.95
Miscarriage with length ≤3 months	2,492	74	1.35	0.95-1.93	0.09	1,461	45	1.27	0.84-1.94		1,031	29	1.35 0.69-2.67
Miscarriage with length >3 months	436	8	0.93	0.41-2.12		253	7	1.17	0.47-2.95		183	1	0.14 0.02-1.24 0.08
TMAP score (not including never pregnant women) ^d													
]0-0.35]	7,545	141	1.00			4,564	85	1.00			2,981	56	1.00
]0.35-0.40]	3,416	88	1.05	0.75-1.48		2,154	59	0.99	0.66-1.48		1,262	29	1.09 0.60-1.98
]0.40-0.45]	1,735	51	1.23	0.81-1.86		1,034	30	1.12	0.67-1.87		701	21	1.33 0.68-2.59
]0.45-0.50]	589	17	1.53	0.80-2.93		433	14	1.41	0.68-2.92		156	3	1.70 0.37-7.71
]0.5-1.00]	1,186	22	1.97	1.19-3.29	0.01	722	12	1.91	1.07-3.42	0.03	464	10	2.04 0.79-5.24
Trend			1.16	1.03-1.30	0.02			1.14	0.99-1.32	0.07			1.17 0.95-1.44

^a Not including missing data. ^bAdjusted for parity (0, 1, 2, ≥3), menopausal status (yes, no), oral contraceptives (never, ever), and gene mutated (*BRCA1*, *BRCA2*). ^cAdjusted for parity (0, 1, 2, ≥3), no. of incomplete pregnancies (0, 1, 2, ≥3), menopausal status (yes, no), oral contraceptives (never, ever), and gene mutated (*BRCA1*, *BRCA2*). ^dAdjusted for menopausal status (yes, no), oral contraceptives (never, ever), and gene mutated (*BRCA1*, *BRCA2*). HR, hazard ratio; CI, confidence interval.

Table 4 Variation of BC risk associated with full-term pregnancies and incomplete pregnancies according to location of the truncating mutation in *BRCA1*.

Reproductive factors	Location of truncating mutation in <i>BRCA1</i> mutation carriers									
	Outside LR1 (16,690 person-years of follow-up)					In LR1 (5,367 person-years of follow-up)				
	Person-years ^a	No. of cases ^a	HR	95% CI	P value	Person-years ^a	No. of cases ^a	HR	95% CI	P value
Parity ^b										
Nulliparous	10,911	21	1.00			3,378	9	1.00		
Parous	5,779	145	1.42	0.77-2.63		1,989	34	0.27	0.13-0.55	<10 ⁻³
No. of full-term pregnancies ^b										
0	10,911	21				3,378	9	1.00		
1-2	4,218	108	1.63	0.88-3.05		1,354	23	0.32	0.15-0.68	<10 ⁻³
≥3	1,546	36	0.96	0.48-1.94		635	11	0.20	0.08-0.49	<10 ⁻³
Full-term pregnancies by attained age ^b										
Nulliparous	10,911	21	1.00			3,378	9	1.00		
Before age 40	4,325	81	1.36	0.72-2.56		1,501	23	0.33	0.16-0.68	<10 ⁻³
After age 40	1,439	63	1.49	0.70-3.19		488	11	0.21	0.09-0.51	<10 ⁻³
Incomplete pregnancies ^c										
Never	14,247	92	1.00			4,419	23	1.00		
Ever	2,404	73	1.43	0.98-2.07	0.06	948	20	0.95	0.47-1.96	
No. of incomplete pregnancies ^c										
0	14,247	92	1.00			4,419	23	1.00		
1-2	2,254	66	1.36	0.93-2.00		820	16	0.82	0.39-1.73	
≥3	150	7	2.59	1.24-5.40	0.01	128	4	2.05	0.48-8.76	
Type and length of incomplete pregnancies ^c										
No incomplete pregnancies	14,204	92	1.00			4,419	23	1.00		
Induced abortion only	1,279	40	1.49	0.95-2.36	0.08	431	5	0.65	0.21-2.00	
Miscarriage with length ≤3 months	924	28	1.33	0.79-2.26		428	13	1.25	0.56-2.81	
Miscarriage with length >3 months	153	4	1.12	0.35-3.59		46	2	1.52	0.18-12.5	

^aNot including missing data. ^bAdjusted for menopausal status (yes, no) and oral contraceptives (never, ever). ^cAdjusted for parity (0, 1, 2, ≥3), menopausal status (yes, no) and oral contraceptives (never, ever). HR, hazard ratio; CI, confidence interval.

Discussion

Our results confirm the existence of a protective effect of an increasing number of FTPs toward BC among *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers. This risk reduction, however, appeared to be significant only for women older than 40 years. Additionally, we found some evidence of an association between pregnancies interrupted within the first three months (induced or spontaneous) and an increased risk of BC. This increased risk appeared to be restricted to incomplete pregnancies occurring before the first FTP. Whatever the outcome of the pregnancy, the results show that a first pregnancy before age 20 was associated with a higher risk of BC than a first pregnancy occurring later. We defined the TMAP score to take into account simultaneously the contrary effect of full-term and interrupted pregnancies. We found a significant positive association between the TMAP score and BC risk. All these results appeared to be similar in *BRCA1* and *BRCA2*. Nevertheless, our results suggest a variation in BC risk associated with parity according to the location of the mutation in *BRCA1*.

Our study has several limitations. First, our results are based on retrospective information obtained from women who opted for *BRCA1* and *BRCA2* mutation screening and genetic testing. One assumption that underlies the method of weighting used in our analyses is that the absolute disease risks are well estimated and ascertainment is not dependent on the covariates of interest [43]. This assumption would be violated if any of the factors related to pregnancies changed the likelihood that women might opt to undergo genetic testing. We are unaware of any study that has assessed whether a woman's uptake of genetic testing differs according to these factors and we cannot assess this potential bias [13].

Second, since our data used prevalent cases with some women being interviewed a long time after their BC diagnosis, we cannot exclude that our findings on parity, breast-feeding and incomplete pregnancies are affected by a potential survival bias. However, we could not detect it in our data by performing extra analyses on subsamples of individuals diagnosed or censored within the five-year period before their interview, with a follow-up being counted only during this five-year period. We did not observe differences in our results using this pseudo-incident cohort.

It is well established that increasing parity and early age at first birth are associated with a lower risk of developing BC in the general population. There is evidence that the protective effect of parity may be restricted to women who are over 40 years old [44-47]. The relationship between pregnancy and risk of BC in *BRCA1* and *BRCA2* carriers is less clear in the earliest publications [15,16,20,21,23]. Our results are more in line with more recent studies [13,17,22,48] which found a decreased risk associated with an increasing number of FTPs among

BRCA1 and *BRCA2* mutation carriers. In agreement with our findings, three of these studies showed a reduced risk of BC only after age 40 years [13,22,48]. Among the studies which assessed the risk of BC associated with the age at first FTP [13,15,17,19-22,48] results are inconsistent and only two studies found a reduced risk among *BRCA1* or *BRCA2* mutation carriers associated with a first FTP after age 20 [13,20]. In contrast with our results, the International *BRCA1/2* Carrier Cohort Study (IBCCS) study [13] found a variation in this risk by gene mutated. They found that a first FTP after the age of 30 years was associated with a significant decrease in BC risk in *BRCA1* and a significant increase in *BRCA2* mutation carriers. Antoniou *et al.* [48] subsequently carried out a similar analysis on 789 *BRCA1/2* mutation carriers from the UK and found that in *BRCA2* mutation carriers the risk is higher for those who have their first FTP later, that is, after age 30. We did not find such a variation although our data overlap for about one quarter of our subjects (319 out of 1,337) with those of the IBCCS study.

A number of studies have examined the risk of BC associated with interrupted pregnancies, but there has been some controversy in the past. A collaborative reanalysis of data from 53 epidemiological studies, including 83,000 women with BC from 16 countries, described inconsistent findings across studies and difficulties in evaluating these associations. It was concluded that BC risk did not appear to be associated with an increased number of either spontaneous or induced abortions [10]. Similar results were obtained subsequently from a prospective study of young women [12]. However, numerous studies have suggested that interrupted pregnancies may moderately increase the risk of BC [5-9,49]. Few studies have examined this association in *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers. Two studies concluded that BC risk did not appear to be associated with an increased number of either spontaneous or induced abortions [13,15]. Furthermore, Friedman *et al.* observed that among *BRCA2* mutation carriers, two or more therapeutic abortions resulted in a 64% decrease in BC risk, but not among *BRCA1* mutation carriers [14]. In 1995, evidence was found that the relative risk conferred by a family history of BC increased with the number of interrupted pregnancies and that this risk was highest for those who had an interrupted pregnancy before the first FTP [50]. Our findings seem consistent with this study. Although, as in many previous studies (for example [51]), a recall bias where BC cases declared interrupted pregnancies more often than controls, would lead to a BC bias away from the null hypothesis. Indeed, we found an increased BC risk associated with an increasing number of induced abortions. However, this risk appeared to be restricted to pregnancies with induced interruptions before the first

FTP. This effect may be because the differentiation of mammary cells which occurs during an FTP [52] prevents the carcinogenic effect of subsequent interrupted pregnancies. In addition, our results indicate that spontaneous abortions occurring in the first three months were associated with an increased risk of BC. The difference in risk according to the pregnancy outcome (interrupted versus full-term) and according to the duration of interrupted pregnancy, whatever the nature of the interruption, and our TMAP scores highlight the importance of the duration of pregnancy as a BC risk factor. This is also illustrated by the findings of Vatten *et al.* [53] who reported that the shorter the length of gestation, the higher the BC risk, in a cohort of about 695,000 women. This score could be useful for the individual estimation of BC risk.

When stratified by homogeneous regions, our results suggest a variation of the BC risk associated with parity according to mutation location in *BRCA1*, but not in *BRCA2*. This is the first time that the effects of pregnancy-related factors according to mutation location have been studied. Although, the significance might occur by chance because of a limited power, parity seems to be associated with a significantly decreased risk of BC among women with a mutation in the LR1 region, but not outside this region. Therefore, pregnancies seem to have the same protective effect in LR1 as in the general population, while outside LR1 parity does not seem to have an effect on BC risk.

Although there is no obvious biological hypothesis to explain this variation, one can expect that *BRCA1* acts during pregnancy. Indeed, *BRCA1* is also involved in cellular anti-proliferation via inhibition of the transcriptional activity of estrogen receptor α (ER α) [54-56]. Interestingly, this mechanism is postulated to occur through a protein-protein interaction involving domains of *BRCA1* corresponding to regions outside of LR1: that is, the N-terminus (amino acids 1-300) and the C-terminal region [54]. In addition, Ma *et al.* [57] provide evidence for a difference in some hormone-related risk factor profiles between triple negative (TN) and other BC subtypes, especially, in line with a protective effect of parity in all subtypes except in TN. Thus, it would be of interest to study the relation between mutation location and the tumor subtype to determine whether the TN tumors are more often associated with mutations located outside LR1.

Conclusions

This study confirms the existence of a protective effect of FTPs toward BC among *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers which is restricted to women with mutation in the LR1 region for *BRCA1* mutation carriers. We also showed the importance of the duration of pregnancies as a BC risk factor.

If our findings are confirmed, taking into account environmental and lifestyle modifiers, mutation position might be important for the clinical management of *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers and could also be helpful in understanding how *BRCA1* and *BRCA2* genes are involved in BC.

Additional material

Additional file 1: Distribution of mutations. Distribution of mutations found in the population under study by gene and by type: Truncating mutations (non-sense mutations, frameshift, and all other type of mutations leading to a truncated protein) and 'other type' (missense mutations, in-phase skipping, large rearrangements, partial and entire gene deletions).

Abbreviations

95%CI: 95% confidence interval; BC: breast cancer; CGH: comparative genomic hybridization; DGGE: denaturing gradient gel electrophoresis; dHPLC: denaturing high performance liquid chromatography; EMMA: enhanced mismatch mutation analysis; ENIGMA: evidence-based network for the interpretation of germline mutant alleles; FTP: full-term pregnancy; HR: hazard ratio; HR2: high-risk region in *BRCA2*; HRM: high resolution melting; LR1: low-risk region in *BRCA1*; LR2: low-risk region in *BRCA2*; MLPA: multiplex ligation-dependent probe amplification; PTA: protein truncation assay; QMPSP: quantitative multiplex polymerase chain reaction of short fragments; qPCR: quantitative polymerase chain reaction; SSCP: single strand conformation polymorphism; TMAP: mitotic activity during pregnancies; TN: triple negative tumors.

Acknowledgements

The GENEPSO study is supported by the Fondation de France and the Ligue Nationale Contre le Cancer. Shirley Waskelman (Institut Curie, Hôpital René Huguenin, Saint Cloud, France) provided technical assistance.

Author details

¹Biostatistics, Institut Curie, rue d'Ulm 26, Paris cedex 05, 75248, France. ²Biostatistics, Inserm U900, rue d'Ulm 26, Paris cedex 05, 75248, France. ³Biostatistics, Mines ParisTech, rue St Honoré 35, Fontainebleau Cedex, 77305, France. ⁴Public Health, Institut Curie Hôpital René Huguenin, rue Dailly 35, Saint Cloud, 92210, France. ⁵Genetic oncology service, Institut Curie, rue d'Ulm 26, Paris cedex 05, 75248, France. ⁶Université Claude Bernard Lyon 1, boulevard du 11 Novembre 1918 43, Villeurbanne cedex, 69622, France. ⁷Epidemiological and Public Health, CNRS UMR 5558, rue Raphaël Dubois 16, Villeurbanne cedex, 69622, France. ⁸Unit of genetic epidemiology and prevention, Centre Léon Bérard, rue Laennec 28, Lyon cedex 08, 69373, France. ⁹Unit of oncology, Centre Paul Strauss, rue de la porte de l'Hôpital 3, Strasbourg, 67000, France. ¹⁰Unit of oncology, Institut de Cancérologie Gustave Roussy, rue Édouard Vaillant 114, Villejuif Cedex, 94805, France. ¹¹Unit Genetics, Inserm U830, rue d'Ulm 26, Paris cedex 05, 75248, France. ¹²Université Paris-Descartes, rue de l'École de Médecine 15, Paris, 75006, France. ¹³Unit of gynecological pathology, Centre François Baclesse, Avenue Général Harris 3, Caen, 14000, France. ¹⁴Oncogenetics, Centre Georges François Leclerc, rue Professeur Marion 1, Dijon, 21000, France. ¹⁵Medical genetics, Hôpital d'enfants, boulevard Maréchal de Lattre de Tassigny 10, Dijon Cedex, 21034, France. ¹⁶Unit medical genetics and oncology, Hôpital Arnaud de Villeneuve CHU Montpellier, avenue du Doyen Gaston Giraud 371, Montpellier Cedex 5, 34295, France. ¹⁷Unit of oncology, Centre Val d'Aurelle, Avenue des Apothicaires-Parc Euromédecine 208, Montpellier Cedex 5, 34298, France. ¹⁸Unit of medical oncology, Institut Claudius Regaud, rue Pont St Pierre 20, Toulouse, 31300, France. ¹⁹Oncology center for the regional cancer genetics consultation Poitou-Charentes, CH Georges Renon, avenue Charles de Gaulle 40, Niort Cedex, 79021, France. ²⁰Department of anticipation and monitoring of cancer, Institut Paoli-Calmettes, boulevard Sainte Marguerite 232, BP156, Marseille Cedex 09, 13273, France. ²¹Unit of medical genetics and oncology, Inserm UMR 912,

boulevard Sainte Marguerite 232, BP156, Marseille Cedex 09, 13273, France. ²²Unit of oncology, Centre Antoine Lacassagne, Avenue Valombrose 33, Nice Cedex 02, 06189, France. ²³Unit of medical oncology, Centre Alexis Vautrin, Avenue de Bourgogne 6, Vandœuvre-lès-Nancy, 54511, France. ²⁴Unit of gynecologic oncology, Centre Catherine de Sienne, Rue Éric Tabarly 2, Nantes, 44202, France. ²⁵Unit of genetics oncology, Groupe hospitalier Pitié Salpêtrière, boulevard de l'Hôpital 83, Paris Cedex 13, 75651, France. ²⁶Unit Genetics, Centre Eugène Marquis, avenue Bataille Flandres Dunkerque, Rennes Cedex, 35042, France. ²⁷Laboratory of molecular genetics, Institut Bergonié, Cours Argonne 229, Bordeaux, 33000, France. ²⁸Unit of genetics, Hôpital Universitaire, Rue Germont 1, Rouen, 76000, France. ²⁹Laboratory of genetics, Institut Curie Hôpital René Huguenin, rue Dailly 35, Saint Cloud, 92210, France.

Authors' contributions

NA and CN contributed to the design. CN was responsible for the coordination of the study. RL supervised the mutation codification. GENEPSO group members made a major contribution to acquisition of data. JL was responsible for data preparation, conducted the statistical analyses and wrote the manuscript. NA supervised the analyses and participated in writing of the manuscript. All authors contributed to the interpretation and discussion of the findings and revised the manuscript critically and have given final approval of the version to be published.

Authors' information

GENEPSO Collaborating Centers:

Coordinating Center, Hôpital René Huguenin/Institut Curie, Saint Cloud: Catherine Noguès, Emmanuelle Fourme, Rosette Lidereau; Etienne Rouleau, Sandrine Caputo, Shirley Wakselman
Collaborating Centers: Institut Curie, Paris: Dominique Stoppa-Lyonnet, Marion Gauthier-Villars; Bruno Buecher, Institut Gustave Roussy, Villejuif: Olivier Caron; Hôpital René Huguenin/Institut Curie, Saint Cloud: Catherine Noguès, Liliane Demange; Centre Paul Strauss, Strasbourg: Jean-Pierre Fricker; Centre Léon Bérard, Lyon: Christine Lasset, Valérie Bonadona; Centre François Baclesse, Caen: Pascaline Berthet; Hôpital d'Enfants CHU Dijon - Centre Georges François Leclerc, Dijon: Laurence Faivre; Centre Alexis Vautrin, Vandoeuvre-les-Nancy: Elisabeth Luporsi; Centre Antoine Lacassagne, Nice: Marc Frénay; Institut Claudius Regaud, Toulouse: Laurence Gladiéff; Réseau Oncogénétique Poitou Charente, Niort: Paul Gesta; Institut Paoli-Calmettes, Marseille: Hagay Sobol, François Eisinger, Laetitia Huiart; Institut Bergonié, Bordeaux: Michel Longy, Centre Eugène Marquis, Rennes: Catherine Dugast; GH Pitié Salpêtrière, Paris: Chrystelle Colas, Florent Soubrier; CHU Arnaud de Villeneuve, Montpellier: Isabelle Coupier, Pascal Pujol; Centres Paul Papin, Strasbourg: Jean-Marc Limacher; Christine Maugard; Hôpital Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand: Yves-Jean Bignon; Polyclinique Courlancy, Reims: Liliane Demange; Clinique Sainte Catherine, Avignon: Hélène Dreyfus; Hôpital Saint-Louis, Paris: Odile Cohen-Haguenauer; CHRU Dupuytren, Limoges: Brigitte Gilbert; Couple-Enfant-CHU de Grenoble: Dominique Leroux; Hôpital de la Timone, Marseille: Hélène Zattara-Cannoni; Inserm U900, Ecole des Mines de Paris, ParisTech, Service de Biostatistiques, Institut Curie, Paris: Nadine Andrieu; Inserm U535, Villejuif: Catherine Bonaïti; Inserm U379, Marseille: Claire Julian-Reynier; Inserm

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Received: 22 February 2012 Revised: 7 June 2012

Accepted: 3 July 2012 Published: 3 July 2012

References

- Antoniou A, Pharoah PD, Narod S, Risch HA, Eyfjord JE, Hopper JL, Loman N, Olsson H, Johannsson O, Borg A, Pasini B, Radice P, Manoukian S, Eccles DM, Tang N, Olah E, Anton-Culver H, Warner E, Lubinski J, Gronwald J, Gorski B, Tulinius H, Thorlacius S, Eerola H, Nevanlinna H, Syrjäkoski K, Kallioniemi OP, Thompson D, Evans C, Peto J, et al: **Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies.** *Am J Hum Genet* 2003, **72**:1117-1130.
- Parsa P, Parsa B: **Effects of reproductive factors on risk of breast cancer: a literature review.** *Asian Pac J Cancer Prev* 2009, **10**:545-550.
- National Breast and Ovarian Cancer Centre: **Breast cancer risk factors, a review of the evidence.** *Australian Government, Cancer Australia* 2009 [http://canceraustralia.nbooc.org.au/view-document-details/rfww-breast-cancer-risk-factors-a-review-of-the-evidence].
- Breast cancer and breastfeeding: collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50302 women with breast cancer and 96973 women without the disease.** *Lancet* 2002, **360**:187-195.
- Newcomb PA, Storer BE, Longnecker MP, Mittendorf R, Greenberg ER, Willett WC: **Pregnancy termination in relation to risk of breast cancer.** *JAMA* 1996, **275**:283-287.
- Brind J, Chinchilli VM, Severs WB, Summy-Long J: **Induced abortion as an independent risk factor for breast cancer: a comprehensive review and meta-analysis.** *J Epidemiol Community Health* 1996, **50**:481-496.
- Wingo PA, Newsome K, Marks JS, Calle EE, Parker SL: **The risk of breast cancer following spontaneous or induced abortion.** *Cancer Causes Control* 1997, **8**:93-108.
- Zografos GC, Panou M, Panou N: **Common risk factors of breast and ovarian cancer: recent view.** *Int J Gynecol Cancer* 2004, **14**:721-740.
- Daling JR, Brinton LA, Voigt LF, Weiss NS, Coates RJ, Malone KE, Schoenberg JB, Gammon M: **Risk of breast cancer among white women following induced abortion.** *Am J Epidemiol* 1996, **144**:373-380.
- Beral V, Bull D, Doll R, Peto R, Reeves G: **Breast cancer and abortion: collaborative reanalysis of data from 53 epidemiological studies, including 83 000 women with breast cancer from 16 countries.** *Lancet* 2004, **363**:1007-1016.
- Palmer JR, Wise LA, Adams-Campbell LL, Rosenberg L: **A prospective study of induced abortion and breast cancer in African-American women.** *Cancer Causes Control* 2004, **15**:105-111.
- Mahue-Giangreco M, Ursin G, Sullivan-Halley J, Bernstein L: **Induced abortion, miscarriage, and breast cancer risk of young women.** *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003, **12**:209-214.
- Andrieu N, Goldgar DE, Easton DF, Rookus M, Brohet R, Antoniou AC, Peock S, Evans G, Eccles D, Douglas F, Nogués C, Gauthier-Villars M, Chompret A, Van Leeuwen FE, Kluij I, Benitez J, Arver B, Olah E, Chang-Claude J: **Pregnancies, breast-feeding, and breast cancer risk in the International BRCA1/2 Carrier Cohort Study (IBCCS).** *J Natl Cancer Inst* 2006, **98**:535-544.
- Friedman E, Kotsopoulos J, Lubinski J, Lynch HT, Ghadirian P, Neuhausen SL, Isaacs C, Weber B, Foulkes WD, Moller P, Rosen B, Kim-Sing C, Gershoni-Baruch R, Ainsworth P, Daly M, Tung N, Eisen A, Olopade OI, Karlan B, Saal HM, Garber JE, Rennert G, Gilchrist D, Eng C, Offit K, Osborne M, Sun P, Narod SA: **Spontaneous and therapeutic abortions and the risk of breast cancer among BRCA mutation carriers.** *Breast Cancer Res* 2006, **8**:R15.
- Jernstrom H, Lerman C, Ghadirian P, Lynch HT, Weber B, Garber J, Daly M, Olopade OI, Foulkes WD, Warner E, Brunet JS, Narod SA: **Pregnancy and risk of early breast cancer in carriers of BRCA1 and BRCA2.** *Lancet* 1999, **354**:1846-1850.
- Tryggvadottir L, Olafsdottir EJ, Gudlaugsdottir S, Thorlacius S, Jonasson JG, Tulinius H, Eyfjord JE: **BRCA2 mutation carriers, reproductive factors and breast cancer risk.** *Breast Cancer Res* 2003, **5**:R121-R128.
- Lee E, Ma H, McKean-Cowdin R, Van Den BD, Bernstein L, Henderson BE, Ursin G: **Effect of reproductive factors and oral contraceptives on breast cancer risk in BRCA1/2 mutation carriers and noncarriers: results from a population-based study.** *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008, **17**:3170-3178.
- Jernstrom H, Lubinski J, Lynch HT, Ghadirian P, Neuhausen S, Isaacs C, Weber BL, Horsman D, Rosen B, Foulkes WD, Friedman E, Gershoni-Baruch R, Ainsworth P, Daly M, Garber J, Olsson H, Sun P, Narod SA: **Breast-feeding and the risk of breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers.** *J Natl Cancer Inst* 2004, **96**:1094-1098.
- Kotsopoulos J, Lubinski J, Lynch HT, Klijn J, Ghadirian P, Neuhausen SL, Kim-Sing C, Foulkes WD, Moller P, Isaacs C, Domchek S, Randall S, Offit K, Tung N, Ainsworth P, Gershoni-Baruch R, Eisen A, Daly M, Karlan B, Saal HM, Couch F, Pasini B, Wagner T, Friedman E, Rennert G, Eng C, Weitzel J, Sun P, Narod SA, Garber J, et al: **Age at first birth and the risk of breast cancer**

- in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *Breast Cancer Res Treat* 2007, **105**:221-228.
20. Hartge P, Chatterjee N, Wacholder S, Brody LC, Tucker MA, Struwing JP: **Breast cancer risk in Ashkenazi BRCA1/2 mutation carriers: effects of reproductive history.** *Epidemiology* 2002, **13**:255-261.
 21. Rebbeck TR, Wang Y, Kantoff PW, Krithivas K, Neuhausen SL, Godwin AK, Daly MB, Narod SA, Brunet JS, Vesprini D, Garber JE, Lynch HT, Weber BL, Brown M: **Modification of BRCA1- and BRCA2-associated breast cancer risk by AIB1 genotype and reproductive history.** *Cancer Res* 2001, **61**:5420-5424.
 22. Milne RL, Osorio A, Cajal T, Baiget M, Lasa A, Diaz-Rubio E, de la Hoya M, Caldes T, Teule A, Lazaro C, Blanco I, Balmana J, Sanchez-Olle G, Vega A, Blanco A, Chirivella I, Esteban CE, Olsson H, Velasco E, Martinez de Duenas E, Tejada MI, Miramar MD, Calvo MT, Guillen-Ponce C, Salazar R, San Roman C, Urioste M, Benitez J: **Parity and the risk of breast and ovarian cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers.** *Breast Cancer Res Treat* 2010, **119**:221-232.
 23. Cullinan CA, Lubinski J, Neuhausen SL, Ghadirian P, Lynch HT, Isaacs C, Weber B, Moller P, Offit K, Kim-Sing C, Friedman E, Randall S, Pasini B, Ainsworth P, Gershoni-Baruch R, Foulkes WD, Klijn J, Tung N, Rennert G, Olopade O, Couch F, Wagner T, Olsson H, Sun P, Weitzel JN, Narod SA: **Effect of pregnancy as a risk factor for breast cancer in BRCA1/BRCA2 mutation carriers.** *Int J Cancer* 2005, **117**:988-991.
 24. Russo J, Russo IH: **Development of the human breast.** *Maturitas* 2004, **49**:2-15.
 25. Russo J, Russo IH: **Cellular basis of breast cancer susceptibility.** *Oncol Res* 1999, **11**:169-178.
 26. Gayther SA, Mangion J, Russell P, Seal S, Barfoot R, Ponder BA, Stratton MR, Easton D: **Variation of risks of breast and ovarian cancer associated with different germline mutations of the BRCA2 gene.** *Nat Genet* 1997, **15**:103-105.
 27. Thompson D, Easton D: **Variation in cancer risks, by mutation position, in BRCA2 mutation carriers.** *Am J Hum Genet* 2001, **68**:410-419.
 28. Thompson D, Easton D: **Variation in BRCA1 cancer risks by mutation position.** *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002, **11**:329-336.
 29. Lubinski J, Phelan CM, Ghadirian P, Lynch HT, Garber J, Weber B, Tung N, Horsman D, Isaacs C, Monteiro AN, Sun P, Narod SA: **Cancer variation associated with the position of the mutation in the BRCA2 gene.** *Fam Cancer* 2004, **3**:1-10.
 30. Lecarpentier J, Nogues C, Mouret-Fourme E, Stoppa-Lyonnet D, Lasset C, Caron O, Fricker JP, Gladieff L, Faivre L, Sobol H, Gesta P, Frenay M, Luporsi E, Coupiet I, Lidereau R, Andrieu N: **Variation in breast cancer risk with mutation position, smoking, alcohol, and chest X-ray history, in the French National BRCA1/2 carrier cohort (GENEPSO).** *Breast Cancer Res Treat* 2011, **130**:927-938.
 31. Risch HA, McLaughlin JR, Cole DE, Rosen B, Bradley L, Kwan E, Jack E, Vesprini DJ, Kuperstein G, Abrahamson JL, Fan I, Wong B, Narod SA: **Prevalence and penetrance of germline BRCA1 and BRCA2 mutations in a population series of 649 women with ovarian cancer.** *Am J Hum Genet* 2001, **68**:700-710.
 32. Risch HA, McLaughlin JR, Cole DE, Rosen B, Bradley L, Fan I, Tang J, Li S, Zhang S, Shaw PA, Narod SA: **Population BRCA1 and BRCA2 mutation frequencies and cancer penetrances: a kin-cohort study in Ontario, Canada.** *J Natl Cancer Inst* 2006, **98**:1694-1706.
 33. Evans DG, Shenton A, Woodward E, Lalloo F, Howell A, Maher ER: **Penetrance estimates for BRCA1 and BRCA2 based on genetic testing in a Clinical Cancer Genetics service setting: risks of breast/ovarian cancer quoted should reflect the cancer burden in the family.** *BMC Cancer* 2008, **8**:155.
 34. Begg CB, Haile RW, Borg A, Malone KE, Concannon P, Thomas DC, Langholz B, Bernstein L, Olsen JH, Lynch CF, Anton-Culver H, Capanu M, Liang X, Hummer AJ, Sima C, Bernstein JL: **Variation of breast cancer risk among BRCA1/2 carriers.** *JAMA* 2008, **299**:194-201.
 35. ENIGMA. (Evidence-based network for the interpretation of germline mutant alleles). [http://www.enigmaconsortium.org].
 36. Schouten JP, McElgunn CJ, Waaijer R, Zwijsenburg D, Diepvens F, Pals G: **Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification.** *Nucleic Acids Res* 2002, **30**:e57.
 37. Casilli F, Di Rocco ZC, Gad S, Tournier I, Stoppa-Lyonnet D, Frebourg T, Tosi M: **Rapid detection of novel BRCA1 rearrangements in high-risk breast-ovarian cancer families using multiplex PCR of short fluorescent fragments.** *Hum Mutat* 2002, **20**:218-226.
 38. Barrois M, Bieche I, Mazoyer S, Champeme MH, Bressac-de Paillerets B, Lidereau R: **Real-time PCR-based gene dosage assay for detecting BRCA1 rearrangements in breast-ovarian cancer families.** *Clin Genet* 2004, **65**:131-136.
 39. Rouleau E, Lefol C, Bourdon V, Coulet F, Noguchi T, Soubrier F, Bieche I, Olschwang S, Sobol H, Lidereau R: **Quantitative PCR high-resolution melting (qPCR-HRM) curve analysis, a new approach to simultaneously screen point mutations and large rearrangements: application to MLH1 germline mutations in Lynch syndrome.** *Hum Mutat* 2009, **30**:867-875.
 40. Weber J, Miserere S, Champ J, Looten R, Stoppa-Lyonnet D, Violy JL, Houdayer C: **High-throughput simultaneous detection of point mutations and large-scale rearrangements by CE.** *Electrophoresis* 2007, **28**:4282-4288.
 41. Gad S, Aurias A, Puget N, Mairal A, Schurra C, Montagna M, Pages S, Caux V, Mazoyer S, Bensimon A, Stoppa-Lyonnet D: **Color bar coding the BRCA1 gene on combed DNA: a useful strategy for detecting large gene rearrangements.** *Genes Chromosomes Cancer* 2001, **31**:75-84.
 42. Rouleau E, Lefol C, Tozlu S, Andrieu C, Guy C, Copigny F, Nogues C, Bieche I, Lidereau R: **High-resolution oligonucleotide array-CGH applied to the detection and characterization of large rearrangements in the hereditary breast cancer gene BRCA1.** *Clin Genet* 2007, **72**:199-207.
 43. Antoniou AC, Goldgar DE, Andrieu N, Chang-Claude J, Brohet R, Rookus MA, Easton DF: **A weighted cohort approach for analysing factors modifying disease risks in carriers of high-risk susceptibility genes.** *Genet Epidemiol* 2005, **29**:1-11.
 44. Negri E, La Vecchia C, Bruzzi P, Dardanoni G, Decarli A, Palli D, Parazzini F, Rosselli del TM: **Risk factors for breast cancer: pooled results from three Italian case-control studies.** *Am J Epidemiol* 1988, **128**:1207-1215.
 45. Kelsey JL, Gammon MD, John EM: **Reproductive factors and breast cancer.** *Epidemiol Rev* 1993, **15**:36-47.
 46. Beral V, Reeves G: **Childbearing, oral contraceptive use, and breast cancer.** *Lancet* 1993, **341**:1102.
 47. Lambe M, Hsieh C, Trichopoulos D, Ekbohm A, Pavia M, Adami HO: **Transient increase in the risk of breast cancer after giving birth.** *N Engl J Med* 1994, **331**:5-9.
 48. Antoniou AC, Shenton A, Maher ER, Watson E, Woodward E, Lalloo F, Easton DF, Evans DG: **Parity and breast cancer risk among BRCA1 and BRCA2 mutation carriers.** *Breast Cancer Res* 2006, **8**:R72.
 49. Daling JR, Malone KE, Voigt LF, White E, Weiss NS: **Risk of breast cancer among young women: relationship to induced abortion.** *J Natl Cancer Inst* 1994, **86**:1584-1592.
 50. Andrieu N, Duffy SW, Rohan TE, Le MG, Luporsi E, Gerber M, Renaud R, Zaridze DG, Lifanova Y, Day NE: **Familial risk, abortion and their interactive effect on the risk of breast cancer—a combined analysis of six case-control studies.** *Br J Cancer* 1995, **72**:744-751.
 51. Rookus MA, Van Leeuwen FE: **Induced abortion and risk for breast cancer: reporting (recall) bias in a Dutch case-control study.** *J Natl Cancer Inst* 1996, **88**:1759-1764.
 52. Russo J, Tay LK, Russo IH: **Differentiation of the mammary gland and susceptibility to carcinogenesis.** *Breast Cancer Res Treat* 1982, **2**:5-73.
 53. Vatten LJ, Romundstad PR, Trichopoulos D, Skjaerven R: **Pregnancy related protection against breast cancer depends on length of gestation.** *Br J Cancer* 2002, **87**:289-290.
 54. Fan S, Ma YX, Wang C, Yuan RQ, Meng Q, Wang JA, Erdos M, Goldberg ID, Webb P, Kushner PJ, Pestell RG, Rosen EM: **Role of direct interaction in BRCA1 inhibition of estrogen receptor activity.** *Oncogene* 2001, **20**:77-87.
 55. Razandi M, Pedram A, Rosen EM, Levin ER: **BRCA1 inhibits membrane estrogen and growth factor receptor signaling to cell proliferation in breast cancer.** *Mol Cell Biol* 2004, **24**:5900-5913.
 56. Cabanes A, Wang M, Olivo S, DeAssis S, Gustafsson JA, Khan G, Hilakivi-Clarke L: **Prepubertal estradiol and genistein exposures up-regulate BRCA1 mRNA and reduce mammary tumorigenesis.** *Carcinogenesis* 2004, **25**:741-748.
 57. Ma H, Wang Y, Sullivan-Halley J, Weiss L, Marchbanks PA, Spirtas R, Ursin G, Burkman RT, Simon MS, Malone KE, Strom BL, McDonald JA, Press MF, Bernstein L: **Use of four biomarkers to evaluate the risk of breast cancer subtypes in the women's contraceptive and reproductive experiences study.** *Cancer Res* 2010, **70**:575-587.

doi:10.1186/bcr3218

Cite this article as: Lecarpentier et al.: Variation in breast cancer risk associated with factors related to pregnancies according to truncating mutation location, in the French National BRCA1 and BRCA2 mutations carrier cohort (GENEPSO). *Breast Cancer Research* 2012 **14**:R99.

II. Du gène à la protéine

Ce chapitre présente de façon simplifiée les principales étapes permettant la fabrication des protéines.

Un gène est un fragment d'ADN qui comprend la séquence codant pour une protéine. L'ADN peut être considéré comme un long texte rédigé à l'aide de quatre lettres qui sont les quatre nucléotides formés à partir de quatre bases : adénine, thymine, cytosine et guanine (A, T, C, G). L'information génétique dépend de l'ordre des bases, c'est la séquence de l'ADN (*cf.* Figure 27).

Ces bases sont complémentaires deux à deux et ne peuvent s'apparier qu'ainsi : adénine avec thymine, guanine avec cytosine. Ces liaisons sont responsables de la forme en échelle de l'ADN, les liaisons entre bases sont les échelons de la molécule d'ADN, qui s'enroule en hélice. Cette complémentarité entre les bases est également conservée lors de la réplication de l'ADN.

Première étape : la transcription

On parle de transcription pour caractériser la synthèse d'ARN à partir d'ADN. Les ARN messagers sont constitués comme l'ADN par l'enchaînement de nucléotides. Une des quatre bases est différente : l'uracile remplace la thymine. Les ARN sont simple brin, constitués d'une seule chaîne de nucléotides, contrairement à l'ADN. Le complexe protéique chargé de la transcription reconnaît un signal de démarrage en début de gène et un signal de terminaison en fin de gène. La transcription aboutit ainsi à la fabrication d'un ARN pré-messager.

Deuxième étape : l'épissage

L'ARN pré-messager va subir plusieurs transformations, dont l'épissage. Les gènes sont constitués d'une suite d'exons et d'introns alternés. L'épissage permet d'extraire de l'ARN pré-messager les introns ou les exons qui ne seront pas nécessaires au codage de la protéine. L'épissage est alternatif puisque pour un même gène les introns ou exons excisés ne sont pas systématiquement les mêmes. Ainsi, un seul gène peut permettre la fabrication de différents ARN messagers qui serviront de matrice à la production de différentes protéines.

Troisième étape : la traduction

Une protéine est formée par un enchaînement précis d'acides aminés. Il en existe 20 différents et de leur ordre dépendent les propriétés de la protéine. Chaque acide aminé correspond à un enchaînement de 3 nucléotides appelé codon¹. La transcription débute à partir d'un codon d'initiation et s'arrête au niveau d'un codon stop.

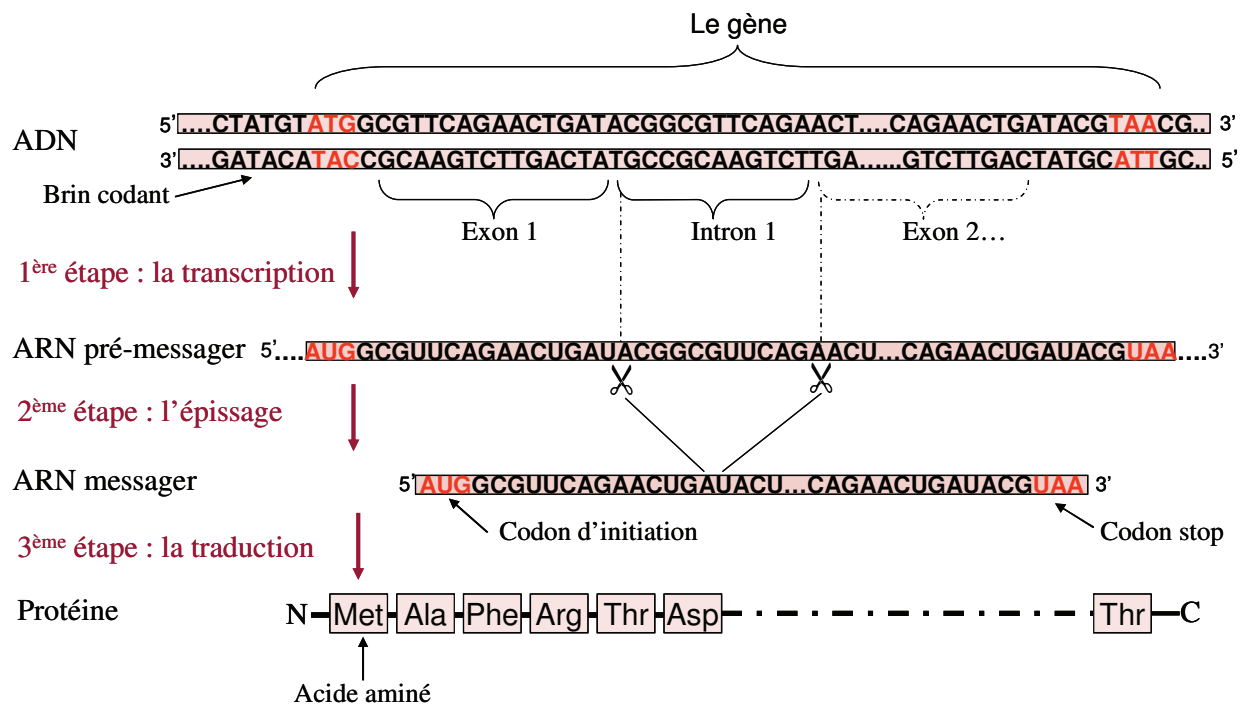


Figure 27 : Principales étapes de la fabrication d'une protéine à partir d'un gène

¹ Plusieurs codons peuvent correspondre à un même acide aminé.

III. Indications de recherche de mutation sur les gènes *BRCA1* et *BRCA2*

source : thèse de Antoine de Pauw [316]

Les indications d'étude des gènes *BRCA1* et *BRCA2* reposent sur la probabilité d'identifier une mutation. En France, le seuil a été fixé à 10% par l'INCa [317], l'INCa finançant la réalisation de ces tests non facturés aux patients. Il a été retenu que l'association des situations suivantes définies en 1998 [318] et toujours utilisées par près de 93% des équipes d'oncogénétique [319], permettaient de répondre à la condition de ce seuil de 10% :

- Au moins trois cas de cancer du sein ou de l'ovaire chez des femmes apparentées par un lien de premier ou second degré, appartenant à la même branche parentale
- Au moins deux cas de cancer du sein chez des femmes, dont au moins un a été diagnostiqué avant l'âge de 40 ans, apparentées au premier degré ou second degré passant par un homme
- Au moins un cas de cancer du sein et un cas de cancer de l'ovaire chez deux femmes apparentées au premier degré ou second degré passant par un homme
- Deux cas de cancer de l'ovaire chez deux femmes apparentées au premier degré ou second degré passant par un homme
- Au moins un cas de cancer du sein ou de l'ovaire chez une femme et un cas de cancer chez l'homme, chez des apparentés de premier degré ou second degré passant par un homme.

Une révision de ces critères publiée en 2004 [317] a introduit de nouveaux critères tels que :

- Un cancer du sein très précoce, apparu avant l'âge de 30 ans
- Un cancer du sein et d'un cancer de l'ovaire chez la même femme, les deux tumeurs étant indépendantes
- Un cancer du sein et un cancer du pancréas
- Un cancer du sein et un cancer de la prostate chez le même homme (le sexe masculin, pour un cancer du sein, possède une forte valeur prédictive)
- Un cancer du sein ou de l'ovaire et deux autres cancers à l'exception de cancers peu ou non liés à des mutations constitutionnelles délétères comme le poumon, la sphère ORL, le col de l'utérus...

Des extensions ont par la suite été proposées en 2009, les seuls critères de 1998 n'étant pas assez sensibles [320]. Ces extensions ont déjà été revues en 2011 [319], et d'autres, non

consensuelles, ont aussi été choisies par les consultations de génétique. En résumé, on peut retenir aujourd'hui parmi les critères individuels :

- Un cancer du sein diagnostiqué avant l'âge de 36 ans
- Un cancer de l'ovaire avant l'âge de 61 ans (sont exclues les tumeurs de type borderline ou de type germinale)
- Un cancer du sein masculin, quel que soit l'âge
- Un cancer du sein de type médullaire quel que soit l'âge
- Un cancer du sein triple négatif, diagnostiqué avant l'âge de 51 ans

IV. Questionnaire d'inclusion

PREDISPOSITIONS GENETIQUES AUX TUMEURS DU SEIN ET DE L'OVAIRE

Questionnaire Épidémiologique

1 – Votre identification

Votre nom :
Nom de jeune fille *Nom marital*

Vos prénoms :

Autres noms maritaux (si précédents mariages) :

Votre adresse : ■ Rue :

■ Ville :

■ Code postal :

■ Pays :

Votre N° de téléphone :

Ces informations nominatives ne seront pas transmises au centre de gestion de l'étude.

<u>À remplir par le centre investigateur</u>	<u>Ne pas remplir</u>
N° du centre : <input type="text"/>	<input type="text"/>
N° de famille : <input type="text"/>	<input type="text"/>
N° du sujet : <input type="text"/>	<input type="text"/>
N° du père : <input type="text"/>	<input type="text"/>
N° de la mère : <input type="text"/>	<input type="text"/>

Questionnaire épidémiologique	1
Date à laquelle vous répondez au questionnaire : <input type="text"/>	<u>Ne pas remplir</u> <input type="text"/>

2 – Sexe, date et lieu de naissance	
Sexe : <input type="checkbox"/> ₁ Homme <input type="checkbox"/> ₂ Femme Date de naissance : <input type="text"/> Lieu de naissance : ▪ Ville : _____ ▪ Département : <input type="text"/> ▪ Pays : _____	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>

3 – Quelle est votre situation matrimoniale actuelle ?	
Vous n'avez jamais vécu en couple..... <input type="checkbox"/> ₁	<u>Ne pas remplir</u> <input type="text"/>
Vous vivez en couple..... <input type="checkbox"/> ₂	
Vous ne vivez plus en couple..... <input type="checkbox"/> ₃	
➤ Si vous vivez (ou avez vécu) en couple, pendant combien d'années, au total : <input type="text"/>	
➤ Si vous ne vivez plus (ou n'avez jamais vécu) en couple, êtes-vous :	
▪ séparé(e)..... <input type="checkbox"/> ₁ ▪ divorcée..... <input type="checkbox"/> ₂ ▪ veuf (ou veuve)..... <input type="checkbox"/> ₃ ▪ divorcée + veuve..... <input type="checkbox"/> ₄	

4 – Quel est votre niveau d'étude ?	
Arrêt des études avant l'âge de 14 ans..... <input type="checkbox"/> ₁	<u>Ne pas remplir</u> <input type="text"/>
Arrêt des études entre l'âge de 15 ans et le bac..... <input type="checkbox"/> ₂	
Bac à bac + 2..... <input type="checkbox"/> ₃	
Bac + 2 à Bac +4..... <input type="checkbox"/> ₄	
Bac + 5 et plus..... <input type="checkbox"/> ₅	
Études en cours..... <input type="checkbox"/> ₆	

(À remplir par le centre investigateur)

N°

5 – Quelle a été votre principale profession ?

Profession que vous avez exercée le plus longtemps, pendant au moins un an avant votre retraite si vous êtes retraité(e) :

Profession ? (en clair)

À partir de
quel âge ?

Pendant combien de
temps ? (en années)

Ne pas remplir

6 – Quelle est la dernière profession de votre conjoint(e) ?

Dernière profession exercée par votre conjoint(e) (profession exercée avant sa retraite s'il (ou elle) est retraité(e)) :

Ne pas remplir

7 – Quel est votre taille actuelle ?

Taille actuelle..... cm

Ne pas remplir

8 – Quel est votre poids ?

Poids actuel..... Kg

Ne pas remplir

■ Ce poids a-t-il changé au cours des deux dernières années ?

☐ 1 oui ☐ 0 non

Si oui, quel était votre poids auparavant :..... Kg

■ Si vous avez récemment eu une tumeur, donnez votre poids avant votre maladie :..... Kg

■ Quel était votre poids quand vous aviez 18 ans (en dehors d'une éventuelle maladie, ou en dehors d'une grossesse pour les femmes) :..... Kg

■ Quel était votre poids de naissance (généralement mentionné sur votre carnet de santé) :..... gr

(À remplir par le centre investigateur)

N°

9 – Quelle est (ou a été) votre consommation de tabac ?

Fumez-vous actuellement ?	<input type="checkbox"/> 1 oui	<input type="checkbox"/> 0 non	<input type="text"/>
Si oui , ■ Combien de cigarettes par jour ?		<input type="text"/>	<input type="text"/>
■ Depuis quel âge ?		<input type="text"/>	<input type="text"/>
■ Pendant combien d'année ? (déduire les années d'interruption)		<input type="text"/>	<input type="text"/>
Si non , avez-vous déjà fumé ?	<input type="checkbox"/> 1 oui	<input type="checkbox"/> 0 non	<input type="text"/>
Si oui , ■ Combien de cigarettes par jour ?		<input type="text"/>	<input type="text"/>
■ À quel âge avez-vous commencé ?		<input type="text"/>	<input type="text"/>
■ Pendant combien d'années ? (déduire les années d'interruption)		<input type="text"/>	<input type="text"/>
■ Depuis combien de temps avez-vous cessé de fumer ? (en années)		<input type="text"/>	<input type="text"/>

10 – Quelle est (ou a été) votre consommation de boissons alcoolisées ?

Buvez-vous ou avez-vous bu des boissons alcoolisées ?	<u>Ne pas remplir</u>
~	~

Si oui, notez d'une croix vos consommations dans le tableau ci-dessous :

TYPE de BOISSONS ALCOOLISEES	Période	0 verre par semaine 1	5 verres ou moins par semaine 2	6 à 10 verres par semaine 3	Plus de 10 verres par semaine 4	<u>Ne pas remplir</u>
Vin de table (1 verre \approx 1/8 de l)	Vers 20 ans					<input type="text"/>
	Actuellement					<input type="text"/>
Vin cuit (porto, muscat...) (1 verre \approx 1/10 de l)	Vers 20 ans					<input type="text"/>
	Actuellement					<input type="text"/>
Bière, Cidre (1 verre \approx 1/4 de l)	Vers 20 ans					<input type="text"/>
	Actuellement					<input type="text"/>
Apéritifs forts ou digestifs (cocktail, whisky...) (1 verre \approx 1/25 de l)	Vers 20 ans					<input type="text"/>
	Actuellement					<input type="text"/>

**Si vous êtes de sexe masculin,
passez à la question 18 (page 9)**

11 – À quel âge avez-vous eu vos premières règles ?

ans

Ne pas remplir

Si vous ne savez pas précisément, indiquez si c'était :

- Plutôt avant 12 ans..... ☐ 1
- Plutôt entre 12 et 15 ans..... ☐ 2
- Plutôt 15 ans et plus..... ☐ 3
- Vous n'avez jamais eu de règles..... ☐ 4
- Vous ne savez pas du tout..... ☐ 5

**Si vous n'avez jamais été réglée,
passez à la question 15 (page 8)**

12 – La périodicité de vos règles actuellement ?

La périodicité de vos règles est (était) elle régulière ?

☐ 1 oui ☐ 0 non

Si oui, ➤ Nombre moyen de jours entre le début d'une période de règles et la suivante :

➤ Si vous ne savez pas précisément, indiquez si c'est (ou c'était) :

- Des cycles réguliers de 24 jours et moins..... ☐ 1
- Des cycles réguliers de 25 à 34 jours..... ☐ 2
- Des cycles réguliers de 32 jours et plus..... ☐ 3

Si non, ➤ Combien de fois par an êtes (ou étiez) vous réglée :

➤ Ne sait plus..... ☐ 0

Ne pas remplir

(À remplir par le centre investigateur)

N°

13 – Temps écoulé depuis vos dernières règles ?

(Répondez à cette question même si vous prenez des contraceptifs oraux (pilule)
ou un traitement hormonal pour la ménopause)

- Si, il y a **moins d'un mois**, depuis combien de jours jours
- Si, il y a **moins de deux ans**, depuis combien de mois mois
- Si, il y a **deux ans ou plus**, depuis combien d'années ans

Si vous n'avez plus vos règles depuis plus d'un an, pour quelles raisons ?
(plusieurs réponses possibles) :

- Grossesse ou allaitement..... ☐ 1
- Ménopause naturelle..... ☐ 2
- Médicament interrompant les règles..... ☐ 3
- Une hystérectomie (ablation de l'utérus)..... ☐ 4
- Une ovariectomie bilatérale (ablation des deux ovaires)..... ☐ 5
- Une radiothérapie..... ☐ 6
- Une chimiothérapie..... ☐ 22
- Une autre raison..... ☐ 23

Préciser laquelle : _____

(À remplir par le centre investigateur)

N°

14 – Avez-vous déjà été enceinte ?

☐ 1 oui ☐ 0 non

Ne pas remplir

Si oui, remplissez les tableaux ci-dessous

1 – Grossesses ayant abouti à la naissance d'un enfant (vivant ou mort-né) :

n°	Âge au début de la grossesse	Durée de la grossesse (en mois)	Date de naissance (jour/mois/année)	Enfant né vivant (oui/non)	Grossesse multiple (Nombre d'enfants : jumeaux=2, triplés=3...)	Allaitement (oui/non)	Durée d'allaitement (en mois)
1	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
2	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
3	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
4	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
5	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
6	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
7	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
8	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
9	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
10	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
11	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
12	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

2 - Grossesses ayant abouti à une fausse couche ou à une IVG (Interruption Volontaire de Grossesse)

n°	Âge au début de la grossesse	Durée de la grossesse (en semaines)	Date d'interruption (mois/année)	Raisons de l'interruption		<u>Ne pas remplir</u>
				Fausse couche	IVG	
1	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="text"/>
2	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="text"/>
3	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="text"/>
4	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="text"/>
5	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="text"/>

(À remplir par le centre investigateur)

N°

15 – Avez-vous (ou avez-vous eu) des difficultés à avoir un enfant ?

Avez-vous consulté un médecin pour des problèmes d'infertilité ?
(difficulté à avoir un enfant)

☐₁ oui ☐₀ non

Avez-vous pris des médicaments pour augmenter vos chances d'avoir un enfant ?

☐₁ oui ☐₀ non

Si oui, ■ Nom du médicament 1 : _____

Date de début (mois/année) : _____

Date de fin (mois/année) : _____

■ Nom du médicament 2 : _____

Date de début (mois/année) : _____

Date de fin (mois/année) : _____

Ne pas remplir

Avez-vous eu une ligature des trompes ?

☐₁ oui ☐₀ non

Si oui, à quelle date ? (mois/année) : _____

Ne pas remplir

(À remplir par le centre investigateur)

N°

16 – Avez-vous déjà utilisé des contraceptifs oraux (pilule) ?

☐ 1 oui ☐ 0 non

(si non, passez à la question 17)

Ne pas remplir

Si oui, indiquez dans le tableau ci-dessous, les périodes successives pendant lesquelles vous avez pris des contraceptifs oraux, en notant l'âge de début, la durée, et si possible, le nom de la pilule.

Age de début	Durée en mois	Nom du médicament	<u>Ne pas remplir</u>
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	1 <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	2 <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	3 <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	4 <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	5 <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	6 <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	7 <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	8 <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>

17 – Si vous êtes ménopausée, prenez-vous un traitement hormonal pour la ménopause ?

☐ 1 oui ☐ 0 non

Ne pas remplir

Si oui, indiquez dans le tableau ci-dessous, les périodes successives pendant lesquelles vous avez pris un traitement hormonal de substitution, en notant l'âge de début, la durée, et si possible, le nom du médicament.

Age de début	Durée en mois	Nom du médicament	<u>Ne pas remplir</u>
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	1 <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	2 <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	3 <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	4 <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	5 <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	6 <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	7 <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>

(À remplir par le centre investigateur)

N°

18 – Avez-vous pris (ou prenez-vous actuellement) du tamoxifène (Nolvadex) ?

☐1 oui ☐0 non ☐2 ne sait pas

Si oui,

Date de début :

Traitement en cours ? ☐1 oui ☐0 non

Si non, Date de fin :

Ne pas remplir

<input type="text"/>
<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
<input type="text"/>
<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>

19 – Avez-vous eu des examens radiologiques du thorax ?

(radio pulmonaire, de la colonne vertébrale, des côtes...)

☐1 oui ☐0 non ☐2 ne sait pas

Ne pas remplir

<input type="text"/>

Si oui, notez d'une croix le nombre d'examens dans le tableau ci-dessous :

Période	0 radios 1	Moins de 5 radios 2	5 radios ou plus 3	<u>Ne pas remplir</u>
Avant l'âge de 20 ans				<input type="text"/>
À 20 ans et plus				<input type="text"/>

20 – Avez-vous eu des mammographies ?

☐1 oui ☐0 non

Si oui,

▪ Âge à la première mammographie :

▪ Âge à la dernière mammographie :

▪ Nombre total de mammographies :

Ne pas remplir

<input type="text"/>
<input type="text"/> <input type="text"/>
<input type="text"/> <input type="text"/>
<input type="text"/> <input type="text"/>

(À remplir par le centre investigateur)

N°

21 – Avez-vous subi une chirurgie des seins, des ovaires ou de l'utérus ?

☐ 1 oui ☐ 0 non

Ne pas remplir

Si oui, veuillez remplir le tableau ci-dessous.

	1^{ère} intervention	2^{ème} intervention	3^{ème} intervention	<u>Ne pas remplir</u>
Sein droit	Âge : <input type="text"/> Raison : <input type="text"/>	Âge : <input type="text"/> Raison : <input type="text"/>	Âge : <input type="text"/> Raison : <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
Sein gauche	Âge : <input type="text"/> Raison : <input type="text"/>	Âge : <input type="text"/> Raison : <input type="text"/>	Âge : <input type="text"/> Raison : <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
Pour les femmes seulement				<u>Ne pas remplir</u>
Ovaire droit	Âge : <input type="text"/> Raison : <input type="text"/>	Âge : <input type="text"/> Raison : <input type="text"/>	Âge : <input type="text"/> Raison : <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
Ovaire gauche	Âge : <input type="text"/> Raison : <input type="text"/>	Âge : <input type="text"/> Raison : <input type="text"/>	Âge : <input type="text"/> Raison : <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
Utérus	Âge : <input type="text"/> Raison : <input type="text"/>	Âge : <input type="text"/> Raison : <input type="text"/>	Âge : <input type="text"/> Raison : <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>

Ne pas remplir

Nom du médecin : _____

NOUS VOUS REMERCIONS DE VOTRE PARTICIPATION

V. Distribution des mutations dans la cohorte GENEPSO

Tableau 57 : Distribution des mutations dans la cohorte GENEPSO

BRCA1				BRCA2			
Mutations tronquantes		Mutations "autre type"		Mutations tronquantes		Mutations "autre type"	
Modification Nucléotidique	Nb de familles	Modification Nucléotidique	Nb de familles	Modification Nucléotidique	Nb de familles	Modification Nucléotidique	Nb de familles
c.0_80	2	c.1A>C	1	c.10G>T	1	c.3900_3903delGAC	1
c.0_5407	1	c.1A>G	3	c.22_23delAG	1	c.7007G>A	2
c.19_47del	1	c.117T>G	2	c.37_44del8	1	c.7007G>C	1
c.34C>T	2	c.140G>A	6	c.145G>T	3	c.7795_7797delGAA	2
c.66dup	2	c.140G>T	2	c.172G>T	1	c.8167G>C	2
c.671_4185	2	c.181T>G	13	c.244A>T	2	c.8396G>C	1
c.68_69delAG	27	c.191G>A	10	c.2471T>G	1	c.8486A>G	1
c.81_134del	4	c.211A>G	1	c.250C>T	4	c.9117G>A	1
c.81_4986del	1	c.4484G>A	2	c.262_263delCT	1	c.IVS11+1delG	1
c.81_548dup	5	c.4484G>C	2	c.273C>A	1	c.IVS12+594T>G	2
c.124delA	1	c.5074G>C	1	c.289G>T	3	c.IVS14-2A>T	3
c.144delG	1	c.5077_5079delGCT	1	c.438delA	1	c.IVS17-7C>G	1
c.178C>T	3	c.5077_5080delGCTCins	1	c.469_470delAA	1	c.IVS2+1G>T	1
c.211delA	4	c.5077_5080delGCTGins	1	c.658_659delGT	1	c.IVS3+3delA	1
c.2125insA	3	c.5078_5080delGCTGins	1	c.662_663delTT	3	c.IVS6-2A>G	1
c.220C>T	1	c.5123C>A	7	c.673_676delACTA	1	c.IVS7+3A>G	1
c.241C>T	1	c.5272_5592del	1	c.700delT	3	c.IVS8+4A>G	1
c.329dup	1	c.IVS11+1G>A	4	c.702delC	1	total deletion	3
c.427G>T	1	c.IVS12+2del2insG	1	c.755_758delACAG	3		
c.442_4357	8	c.IVS18+5G>A	1	c.771_775delTCAAA	1		
c.442_547	1	c.IVS19+2delT	1	c.772C>T	1		
c.470_471delCT	1	c.IVS20+1G>A	1	c.8002A>T	1		
c.798_799delTT	9	c.IVS21+2T>C	1	c.994dup	1		
c.815_824dup	1	c.IVS21+4A>G	1	c.1117C>T	2		
c.835delC	1	c.IVS21-36del510	3	c.1228delA	1		
c.924delC	1	c.IVS2-1G>C	1	c.1231del11ins4	1		

BRCA1				BRCA2			
Mutations tronquantes		Mutations "autre type"		Mutations tronquantes		Mutations "autre type"	
Modification Nucléotidique	Nb de familles	Modification Nucléotidique	Nb de familles	Modification Nucléotidique	Nb de familles	Modification Nucléotidique	Nb de familles
c.925A>T	2	c.IVS22+5G>C	2	c.1257delT	3		
c.928C>T	1	total deletion	2	c.1310_1313delAAGA	7		
c.962G>A	1			c.1327G>T	1		
c.981_982delAT	3			c.1389_1390delAG	1		
c.984_988	3			c.1593dup	2		
c.1010dup	4			c.1597delA	2		
c.1067delA	1			c.1612_1613delAG	1		
c.1115G>A	1			c.1636delT	3		
c.1121_1123delCACinsT	1			c.1773_1776delTTAT	1		
c.1121delC	5			c.1796_1800delCTTAT	4		
c.1157_1170del14	1			c.1797_1801delTTATA	1		
c.1266T>G	1			c.1806dup	2		
c.1292T>G	2			c.1813delA	2		
c.1387delA	2			c.1813dup	3		
c.1389dup	1			c.1929delG	8		
c.1480C>T	4			c.2092delC	1		
c.1483_1498del16	1			c.2175dup	1		
c.1504_1508delTTAAA	3			c.2612C>A	1		
c.1529C>G	1			c.2636_2637delCT	1		
c.1551delT	1			c.2653_2556delGACA	2		
c.1618G>T	1			c.2806_2809delAAAC	1		
c.1621C>T	1			c.2808_2811delACAA	11		
c.1630C>T	2			c.2870delA	1		
c.1687C>T	3			c.2979G>A	1		
c.1694delA	1			c.3195delT	1		
c.1714G>T	2			c.3267_3268delGA	1		
c.1758_1761delTATA	1			c.3366_3367delAA	1		
c.1881_1894delCAGT	1			c.3405C>A	1		
c.1888delA	1			c.3450insAG	1		
c.1892dup	5			c.3545_3546delTT	6		
c.1930delT	1			c.3599_3600delGT	1		

BRCA1				BRCA2			
Mutations tronquantes		Mutations "autre type"		Mutations tronquantes		Mutations "autre type"	
Modification Nucléotidique	Nb de familles	Modification Nucléotidique	Nb de familles	Modification Nucléotidique	Nb de familles	Modification Nucléotidique	Nb de familles
c.1953_1956delGAA	2			c.3680_3681delTG	1		
c.1953delGAAA	1			c.3742_3745delAGTG	1		
c.1961dup	2			c.3744_3747delTGAG	2		
c.1965C>A	1			c.3847_3848delGT	4		
c.2008G>T	1			c.3847delG	1		
c.2019delA	3			c.3860_3863delATAA	1		
c.2043dup	1			c.3865_3868delAAAT	1		
c.2068A>T	1			c.3915delT	1		
c.2138C>G	1			c.4095delT	1		
c.2269delG	2			c.4284dup	1		
c.2309C>A	1			c.4638delT	3		
c.2359dup	4			c.4684C>T	1		
c.2411delA	1			c.4889C>A	2		
c.2501delG	1			c.4889C>G	6		
c.2561_2565delCTCAG	3			c.4926_4935del10	2		
c.2572C>T	2			c.4965C>G	1		
c.2603C>G	1			c.5066insA	1		
c.2610delCinsTT	1			c.5072dup	1		
c.2612dup	2			c.5208delA	1		
c.2670delG	2			c.5216T>A+delT	1		
c.2676_2679delAAAAG	1			c.5303_5304delTT	1		
c.2679_2682delGAAA	5			c.5350_5351delAA	2		
c.2700_2701delTT	2			c.5351delA	3		
c.2709_2710delTG	1			c.5353dup	1		
c.2722G>T	3			c.5482_5486delAAATT	1		
c.2727_2730delTCAA	1			c.5576_5579delTTAA	1		
c.2761C>T	1			c.5582dup	1		
c.2806_2809delGATA	1			c.5592_5593delCA	1		
c.2814delA	1			c.5595_5596delAT	1		
c.2846delG	1			c.5623delA	1		
c.2890G>T	1			c.5641_5644delAAAT	2		

BRCA1				BRCA2			
Mutations tronquantes		Mutations "autre type"		Mutations tronquantes		Mutations "autre type"	
Modification Nucléotidique	Nb de familles	Modification Nucléotidique	Nb de familles	Modification Nucléotidique	Nb de familles	Modification Nucléotidique	Nb de familles
c.2911delC	1			c.5645C>A	6		
c.2951_2952delTT	1			c.5665delA	2		
c.3013delG	3			c.5682C>G	2		
c.3016_3019delCATT	2			c.5699C>A	1		
c.3018_3021delTTCA	3			c.5720_5723delCTCT	1		
c.3143delG	1			c.5722_5723delCT	1		
c.3226_3227delAG	2			c.5782G>T	1		
c.3266delT	1			c.5835_5843dup	3		
c.3289delA	1			c.5857G>T	3		
c.3307dup	2			c.5904_5907delAGTC	1		
c.3326_3329delAAAA	2			c.5909C>A	5		
c.3328dup	1			c.5944delA	1		
c.3329delA	3			c.5946delT	11		
c.3331_3334delCAAG	2			c.5980C>T	1		
c.3331delC	1			c.5983dup	1		
c.3352C>T	1			c.5984dup	1		
c.3355_3359delACTGT	1			c.6033_6034delTT	2		
c.3357delT	1			c.6085G>T	1		
c.3381T>G	1			c.6209_6212delAAAG	4		
c.3403C>T	2			c.6235delG	1		
c.3450dup	1			c.6270_6271delTA	1		
c.3476_3479delTAAA	1			c.6275_6276delTT	4		
c.3477_3480delAAAG	1			c.6302delA	1		
c.3481_3491del	51			c.6373dup	1		
c.3481delG	1			c.6396dup	1		
c.3485delA	1			c.6401_6404delATAA	2		
c.3598C>T	2			c.6405_6409delCTTAA	7		
c.3607C>T	5			c.6443_6444delCT	1		
c.3612delA	1			c.6468_6469delTC	1		
c.3627_3631delinsAGAC	2			c.6486_6489delACAA	1		
c.3627dup	5			c.6490C>T	1		

BRCA1				BRCA2			
Mutations tronquantes		Mutations "autre type"		Mutations tronquantes		Mutations "autre type"	
Modification Nucléotidique	Nb de familles	Modification Nucléotidique	Nb de familles	Modification Nucléotidique	Nb de familles	Modification Nucléotidique	Nb de familles
c.3628_3629delAG	1			c.6491_6494delAGTT	1		
c.3648dup	1			c.6527delA	1		
c.3661G>T	1			c.6591_6592delTG	1		
c.3700_3704delGTAAA	1			c.6644_6647delACTC	7		
c.3730_3737del8	2			c.6656C>G	2		
c.3730ins50	1			c.6684delA	1		
c.3748G>T	2			c.6833_6837delTCTTA	1		
c.3756_3759delCTGT	1			c.6959delT	1		
c.3756_3759delGTCT	8			c.7047delT	1		
c.3770_3771delAG	7			c.7069_7070delCT	5		
c.3839_3841delCTCinsC	1			c.7187dup	1		
c.3839_3843delCTCAGin	13			c.7208_7211delCCAA	1		
c.3839_3843delCTCGAin	1			c.7248delG	1		
c.3841C>T	13			c.7303C>T	1		
c.3862G>T	2			c.7322delG	1		
c.3904G>T	1			c.7379delA	1		
c.3926delA	2			c.7480C>T	4		
c.3931_3934delAACA	3			c.7558C>T	2		
c.3937C>T	2			c.7636_7645del10	1		
c.3937G>T	1			c.7671delA	2		
c.3939_3341delTGA	1			c.7680delT	1		
c.3949_3976dup	1			c.7680dup	3		
c.3952_3955delATTG	1			c.8029_8030delGA	1		
c.3968_3971delAAAT	1			c.8053delA	1		
c.4038_4041delAAGA	1			c.8072_8073delCT	1		
c.4065_4068delTCAA	17			c.8140C>T	7		
c.4120_4121delAG	1			c.8247_8248delGA	1		
c.4128delA	1			c.8297delC	1		
c.4183C>T	7			c.8364G>A	3		
c.4186_4357del	1			c.8451T>A	1		
c.4186_4358	1			c.8463dup	2		

BRCA1				BRCA2			
Mutations tronquantes		Mutations "autre type"		Mutations tronquantes		Mutations "autre type"	
Modification Nucléotidique	Nb de familles	Modification Nucléotidique	Nb de familles	Modification Nucléotidique	Nb de familles	Modification Nucléotidique	Nb de familles
c.4195_4196delAC	4			c.8537_8538delAG	1		
c.4251_4252delGT	3			c.8601insT	1		
c.4258C>T	1			c.8848_8851delAAGG	1		
c.4282ins39	1			c.8904delC	3		
c.4327C>T	21			c.9019insTCTA	1		
c.4358_4986	1			c.9026_9029delTATCA	10		
c.4391delC	5			c.9026_9030delATCAT	2		
c.4391delCTAinsTT	2			c.9097delA	1		
c.4391dup	1			c.9097dup	1		
c.4393delA	1			c.9196C>T	1		
c.4485_4675del	1			c.9252dup	1		
c.4485-4986del	1			c.9286C>A	1		
c.4570_4573delTCTC	1			c.9294C>A	4		
c.4575_4585del	1			c.9325insATTA	2		
c.4617_4618delGGinsTT	1			c.9382C>T	4		
c.4689C>A	1			c.9403delC	1		
c.4757dup	1			c.9433_9434delGT	1		
c.4810C>T	1			c.9474delA	1		
c.4947delAGAinsTTTT	1			c.9498delT	1		
c.4964_4982del19	1			c.9883C>T	1		
c.4998C>A	1						
c.5030_5033delCTAA	11						
c.5030delC	1						
c.5035_5039delCTAAT	2						
c.5038_5042dup	1						
c.5044_5048delGAAGain	1						
c.5075_5278	1						
c.5080G>T	2						
c.5128G>T	4						
c.5137delG	5						
c.5194_5277del	1						

BRCA1				BRCA2			
Mutations tronquantes		Mutations "autre type"		Mutations tronquantes		Mutations "autre type"	
Modification Nucléotidique	Nb de familles	Modification Nucléotidique	Nb de familles	Modification Nucléotidique	Nb de familles	Modification Nucléotidique	Nb de familles
c.5251C>T	1						
c.5260G>T	4						
c.5265dup	56						
c.5266delC	1						
c.527_538del12insGG	1						
c.5289dup	1						
c.5329_5332+6delinsCA	1						
c.5409_5410delTG	1						
c.5444G>A	2						
c.5503C>T	3						
c.5536C>T	1						
c.5548delC	1						
c.IVS3+1G>A	1						
c.IVS5+1G>A	2						
c.IVS5+3A>G	10						
c.IVS5-2A>G	2						

Weights Template for BRCA1 mutation carriers.
Modify the cells in blue only

Age Group	Cases	Controls	PY cases	PY Controls
18-24	2	36	46,00	775,00
25-29	26	70	712,00	1904,00
30-34	65	80	2102,00	2556,00
35-39	83	95	3074,00	3503,00
40-44	67	84	2791,00	3514,00
45-49	48	64	2255,00	3008,00
50-54	22	40	1139,00	2069,00
55-59	12	32	680,00	1802,00
60-64	4	13	246,00	804,00
65-69	2	10	132,00	665,00
70-79	1	7	74,00	550,00
	332	531	13251,00	21150,00

PY= Person Years from birth to censoring
Controls=Unaffected
Cases=Affected

Age Group	Cases	Controls	Cases: PY in age group	Controls: PY in age group	External Rate (1)	Case Weight	Control Weight	Controls C/f	Implied rate *
18-24	2	36	10,00	127,00	0,00020	0,5911	1,0227	863	0,00020
25-29	26	70	62,00	154,00	0,00108	0,1597	1,3121	825	0,00108
30-34	65	80	152,00	156,00	0,00736	0,3638	1,5169	729	0,00736
35-39	83	95	169,00	178,00	0,01594	0,4550	1,4761	584	0,01594
40-44	67	84	111,00	154,00	0,02917	0,6722	1,2615	406	0,02917
45-49	48	64	95,00	128,00	0,04278	0,8361	1,1229	255	0,04278
50-54	22	40	39,00	69,00	0,02645	0,6163	1,2110	143	0,02645
55-59	12	32	20,00	42,00	0,03006	0,6146	1,1445	81	0,03006
60-64	4	13	6,00	24,00	0,02698	0,8780	1,0375	37	0,02698
65-69	2	10	2,00	15,00	0,02960	0,8458	1,0308	20	0,02960
70-79	1	7	4,00	60,00	0,02960	1,7876	0,8875	8	0,02960
	332	531	670,00	1107,00		0,4965			

(1) From Antoniou et al, AJHG (2003)
* This should agree with the external rate

VI. Programme stata pour permutations

***Création d'une boucle pour générer 10 000 échantillons différents**

```
forvalues j=1/10000 {
```

***Chargement du fichier contenant les données de la cohorte "une femme par famille"**

```
use une_femme_par_famille_permut
```

***Génération d'une nouvelle loi uniforme à chaque échantillon simulé**

```
set seed `j'
```

***Création de la localisation aléatoire des mutations tronquantes**

***Pour BRCA1**

***Génération d'une variable aléatoire à partir d'une loi uniforme uniquement pour les femmes porteuses d'une mutation tronquante**

```
gen X1= int((100-0+1)*uniform()) if brca==1 & FS1==0
```

***Redistribution des régions en fonction de la proportion de femme dans chaque région dans l'échantillon « une femme par famille »**

```
gen région_BRCA1=.
replace région_BRCA1=1 if X1>=0 & X1<20
replace région_BRCA1=2 if X1>=20 & X1<44
replace région_BRCA1=3 if X1>=44 & X1!=.
replace région_BRCA1=99 if autre_type1==1
```

*** Estimation des β_i associé à chaque région dans BRCA1**

```
xi : stcox i.région_BRCA1 ,nohr strata (class_an_nais)
```

***Enregistrement des estimations du risque associé à la localisation des mutations**

```
matrix Ln(HRsimi) 1=e(b)
svmat Ln(HRsimi) 1
```

*** Pour BRCA2**

***Génération d'une variable aléatoire à partir d'une loi uniforme uniquement pour les femmes porteuse d'une mutation tronquante**

```
gen X2= int((100-0+1)*uniform()) if brca==2 & autre_type2==0
```

***Redistribution des régions en fonction de la proportion de femme dans chaque région dans l'échantillon « une femme par famille »**

```
gen région_BRCA2=.
replace région_BRCA2=1 if mutation2>=0 & mutation2<30
```

```

replace région_BRCA2=2 if mutation2>=30 & mutation2<47
replace région_BRCA2=3 if mutation2>=47 & mutation2<81
replace région_BRCA2=4 if mutation2>=81 & mutation2<90
replace région_BRCA2=5 if mutation2>=90 & mutation2!=.
replace région_BRCA2=99 if autre_type2==1

```

***Estimation des β i associé à chaque région dans BRCA1**

```
xi : stcox i.région_BRCA2 ,nohr strata (class_an_nais)
```

***Enregistrement des estimations du risque associé à la localisation des mutations**

```

matrix Ln(HRsimi)2=e(b)
svmat Ln(HRsimi)2

```

***Enregistrement**

```
save analyse_sensibilite_`j'
```

```
clear
```

*** Merging des fichiers résultats**

***Chargement du fichier contenant les données de la cohorte "une femme par famille"**

```
use une_femme_par_famille_permut
```

```

append using analyse_sensibilite_`j', keep(Ln(HRsimi)11 Ln(HRsimi) Ln(HRsimi)13 Ln(HRsimi)21
Ln(HRsimi)22 Ln(HRsimi)23 Ln(HRsimi)24 Ln(HRsimi)25 )

```

```
save une_femme_par_famille_permut, replace
```

***Fermeture du fichier**

```
clear
```

```
erase analyse_sensibilite_`j'.dta
```

***Fin de la boucle**

```
}
```

***Méthode création de distribution**

***Ouverture du fichier contenant les 10 000 estimations**

```
use une_femme_par_famille_permut
```

***Pour chaque région génération d'une variable qui vaut 0 si le $\ln HR_{b1}$ est compris entre - (HR_{obsi}) et $+\ln(HR_{obsi})$, et 1 si $\ln(HR_{simi}) \leq -\ln(HR_{obsi})$ ou $\ln(HR_{simi}) \geq +\ln(HR_{obsi})$**

***Pour BRCA1**

```

gen p_HR_1a=.
replace p_HR_1a=0 if Ln(HRsimi)11>-0.3282075 & Ln(HRsimi)11<0.3282075
replace p_HR_1a=1 if ! Ln(HRsimi)11<=-0.3282075 | Ln(HRsimi)11>=0.3282075

```

```

gen p_HR_1b=.
replace p_HR_1b=0 if Ln(HRsimi)12>-0.156043 & Ln(HRsimi)12<0.156043

```

replace p_HR_1b=1 if Ln(HRsimi)12<=-0.156043 | Ln(HRsimi)12>=0.156043

***BRCA2**

gen p_HR_2a=.

replace p_HR_2a=0 if Ln(HRsimi)21>-0.9860918 & Ln(HRsimi)21<0.9860918

replace p_HR_2a=1 if Ln(HRsimi)21<=-0.9860918 | Ln(HRsimi)21>=0.9860918

gen p_HR_2b=.

replace p_HR_2b=0 if Ln(HRsimi)22>-0.102247 & Ln(HRsimi)22<0.102247

replace p_HR_2b=1 if Ln(HRsimi)22<=-0.102247 | Ln(HRsimi)22>=0.102247

gen p_HR_2c=.

replace p_HR_2c=0 if Ln(HRsimi)23>-1.054761 & Ln(HRsimi)23<1.054761

replace p_HR_2c=1 if Ln(HRsimi)23<=-1.054761 | Ln(HRsimi)23>=1.054761

gen p_HR_2d=.

replace p_HR_2d=0 if Ln(HRsimi)24>-0.3397096 & Ln(HRsimi)24<0.3397096

replace p_HR_2d=1 if Ln(HRsimi)24<=-0.3397096 | Ln(HRsimi)24>=0.3397096

***affichage des p de significations correspondant à chaque région**

tab p_HR_1a

tab p_HR_1b

tab p_HR_2a

tab p_HR_2b

tab p_HR_2c

tab p_HR_2d

Références

1. Rouesse J: Une histoire du cancer du sein en Occident: Enseignements et réflexions. Springer; 2011.
2. Yager JD, Davidson NE: **Estrogen carcinogenesis in breast cancer.** N Engl J Med 2006, **354**: 270-282.
3. McGuire WL: **Hormone receptors: their role in predicting prognosis and response to endocrine therapy.** Semin Oncol 1978, **5**: 428-433.
4. Platet N, Cathiard AM, Gleizes M, Garcia M: **Estrogens and their receptors in breast cancer progression: a dual role in cancer proliferation and invasion.** Crit Rev Oncol Hematol 2004, **51**: 55-67.
5. Kapoor A, Vogel VG: **Prognostic factors for breast cancer and their use in the clinical setting.** Expert Rev Anticancer Ther 2005, **5**: 269-281.
6. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA et al.: **Molecular portraits of human breast tumours.** Nature 2000, **406**: 747-752.
7. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A et al.: **Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets.** Proc Natl Acad Sci U S A 2003, **100**: 8418-8423.
8. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, Cheang M, Karaca G, Hu Z et al.: **Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma.** Clin Cancer Res 2004, **10**: 5367-5374.
9. Livasy CA, Karaca G, Nanda R, Tretiakova MS, Olopade OI, Moore DT et al.: **Phenotypic evaluation of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma.** Mod Pathol 2006, **19**: 264-271.
10. Bertucci F, Finetti P, Cervera N, Birnbaum D: **[Prognostic classification of breast cancer and gene expression profiling].** Med Sci (Paris) 2008, **24**: 599-606.
11. Ferlay J, Autier P, Boniol M, Heanue M, Colombet M, Boyle P: **Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006.** Ann Oncol 2007, **18**: 581-592.
12. Minami Y, Tsubono Y, Nishino Y, Ohuchi N, Shibuya D, Hisamichi S: **The increase of female breast cancer incidence in Japan: emergence of birth cohort effect.** Int J Cancer 2004, **108**: 901-906.
13. McShane LM, Altman DG, Sauerbrei W, Taube SE, Gion M, Clark GM: **REporting recommendations for tumour MARKer prognostic studies (REMARK).** Br J Cancer 2005, **93**: 387-391.
14. Belot A, Grosclaude P, Bossard N, Jouglu E, Benhamou E, Delafosse P et al.: **Cancer incidence and mortality in France over the period 1980-2005.** Rev Epidemiol Sante Publique 2008, **56**: 159-175.

15. Survie attendue des patients atteints de cancer en France : état des lieux. INCa, collection rapports et synthèses . 2010.
16. Allemand H, Seradour B, Weill A, Ricordeau P: **[Decline in breast cancer incidence in 2005 and 2006 in France: a paradoxical trend]**. Bull Cancer 2008, **95**: 11-15.
17. Fontenoy AM, Leux C, Delacour-Billon S, Allieux C, Frenel JS, Campone M et al.: **Recent trends in breast cancer incidence rates in the Loire-Atlantique, France: a decline since 2003**. Cancer Epidemiol 2010, **34**: 238-243.
18. Grosclaude P: **[Contributions of the descriptive epidemiology, the registers and the troops. French situation seen by the registers of population]**. Med Sci (Paris) 2007, **23 Spec No 3**: 22-25.
19. Berrino F, De AR, Sant M, Rosso S, Bielska-Lasota M, Coebergh JW et al.: **Survival for eight major cancers and all cancers combined for European adults diagnosed in 1995-99: results of the EURO CARE-4 study**. Lancet Oncol 2007, **8**: 773-783.
20. Coleman MP, Quaresma M, Berrino F, Lutz JM, De AR, Capocaccia R et al.: **Cancer survival in five continents: a worldwide population-based study (CONCORD)**. Lancet Oncol 2008, **9**: 730-756.
21. Motteville: **Mémoires pour servir à l'histoire d'Anne d'Autriche**. Volume 6 1750:194.
22. Ramazzini: **Essai sur les maladies des artisans**. Fourcroy edition 1777:253.
23. Rigoni-Stern D: **Fatti statistici relativi alle malattie cancerose che servirono di base alle poche cose dette dal dott.** Giornale per servire ai progressi della patologia e della terapeutica edition 1842:507-517.
24. Key TJ, Pike MC: **The role of oestrogens and progestagens in the epidemiology and prevention of breast cancer**. Eur J Cancer Clin Oncol 1988, **24**: 29-43.
25. Clemons M, Goss P: **Estrogen and the risk of breast cancer**. N Engl J Med 2001, **344**: 276-285.
26. Nandi S, Guzman RC, Yang J: **Hormones and mammary carcinogenesis in mice, rats, and humans: a unifying hypothesis**. Proc Natl Acad Sci U S A 1995, **92**: 3650-3657.
27. Lupulescu A: **Estrogen use and cancer incidence: a review**. Cancer Invest 1995, **13**: 287-295.
28. Deshaies-Gendron: Recherches sur la nature et la guérison des cancers, Delaulne edn. André Cramoisy; 1700.
29. Beatson C: **On treatment of inoperable cases of carcinoma of the mamma: suggestions for a new method of treatment with illustrative cases**. Lancet edition 1896:104-107.
30. Glade MJ: **Food, nutrition, and the prevention of cancer: a global perspective**. American Institute for Cancer Research/World Cancer Research Fund, American Institute for Cancer Research, 1997. Nutrition 1999, **15**: 523-526.

31. Clavel-Chapelon F, Gerber M: **Reproductive factors and breast cancer risk. Do they differ according to age at diagnosis?** Breast Cancer Res Treat 2002, **72**: 107-115.
32. Kelsey JL, Gammon MD, John EM: **Reproductive factors and breast cancer.** Epidemiol Rev 1993, **15**: 36-47.
33. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer.: **Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52,705 women with breast cancer and 108,411 women without breast cancer.** Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Lancet 1997, **350**: 1047-1059.
34. Clavel-Chapelon F: **Evolution of age at menarche and at onset of regular cycling in a large cohort of French women.** Hum Reprod 2002, **17**: 228-232.
35. Titus-Ernstoff L, Longnecker MP, Newcomb PA, Dain B, Greenberg ER, Mittendorf R et al.: **Menstrual factors in relation to breast cancer risk.** Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1998, **7**: 783-789.
36. Brisson J, Berube S, Diorio C: **[Breast density: a biomarker to better understand and prevent breast cancer].** Bull Cancer 2006, **93**: 847-855.
37. Wolfe JN: **Risk for breast cancer development determined by mammographic parenchymal pattern.** Cancer 1976, **37**: 2486-2492.
38. Boyd NF, Rommens JM, Vogt K, Lee V, Hopper JL, Yaffe MJ et al.: **Mammographic breast density as an intermediate phenotype for breast cancer.** Lancet Oncol 2005, **6**: 798-808.
39. Brisson J, Merletti F, Sadowsky NL, Twaddle JA, Morrison AS, Cole P: **Mammographic features of the breast and breast cancer risk.** Am J Epidemiol 1982, **115**: 428-437.
40. Brisson J, Diorio C, Masse B: **Wolfe's parenchymal pattern and percentage of the breast with mammographic densities: redundant or complementary classifications?** Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2003, **12**: 728-732.
41. Brisson J, Morrison AS, Khalid N: **Mammographic parenchymal features and breast cancer in the breast cancer detection demonstration project.** J Natl Cancer Inst 1988, **80**: 1534-1540.
42. Byrne C, Schairer C, Wolfe J, Parekh N, Salane M, Brinton LA et al.: **Mammographic features and breast cancer risk: effects with time, age, and menopause status.** J Natl Cancer Inst 1995, **87**: 1622-1629.
43. Brisson J, Verreault R, Morrison AS, Tennina S, Meyer F: **Diet, mammographic features of breast tissue, and breast cancer risk.** Am J Epidemiol 1989, **130**: 14-24.
44. Lambe M, Hsieh C, Trichopoulos D, Ekblom A, Pavia M, Adami HO: **Transient increase in the risk of breast cancer after giving birth.** N Engl J Med 1994, **331**: 5-9.
45. Rosner B, Colditz GA, Willett WC: **Reproductive risk factors in a prospective study of breast cancer : the nurses'health study.** AMERICAN JOURNAL OF EPIDEMIOLOGY 1994, **139**: 819-835.

46. Bruzzi P, Negri E, La VC, Decarli A, Palli D, Parazzini F et al.: **Short term increase in risk of breast cancer after full term pregnancy.** BMJ 1988, **297**: 1096-1098.
47. Pathak DR, Speizer FE, Willett WC, Rosner B, Lipnick RJ: **Parity and breast cancer risk: possible effect on age at diagnosis.** Int J Cancer 1986, **37**: 21-25.
48. Beral V, Reeves G: **Childbearing, oral contraceptive use, and breast cancer.** Lancet 1993, **341**: 1102.
49. Russo J, Hu YF, Yang X, Russo IH: **Developmental, cellular, and molecular basis of human breast cancer.** J Natl Cancer Inst Monogr 2000, 17-37.
50. Henderson BE, Bernstein L: **The international variation in breast cancer rates: an epidemiological assessment.** Breast Cancer Res Treat 1991, **18 Suppl 1**: S11-S17.
51. Albrektsen G, Heuch I, Kvale G: **The short-term and long-term effect of a pregnancy on breast cancer risk: a prospective study of 802,457 parous Norwegian women.** Br J Cancer 1995, **72**: 480-484.
52. Darmon P. Les cellules folles. 120. 1993.
53. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer.: **Breast cancer and breastfeeding: collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50302 women with breast cancer and 96973 women without the disease.** Lancet 2002, **360**: 187-195.
54. Brind J, Chinchilli VM, Severs WB, Summy-Long J: **Induced abortion as an independent risk factor for breast cancer: a comprehensive review and meta-analysis.** J Epidemiol Community Health 1996, **50**: 481-496.
55. Beral V, Bull D, Doll R, Peto R, Reeves G, Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer: **Breast cancer and abortion: collaborative reanalysis of data from 53 epidemiological studies, including 83?000 women with breast cancer from 16 countries.** Lancet 2004, **363**: 1007-1016.
56. Palmer JR, Wise LA, Adams-Campbell LL, Rosenberg L: **A prospective study of induced abortion and breast cancer in African-American women.** Cancer Causes Control 2004, **15**: 105-111.
57. Mahue-Giangreco M, Ursin G, Sullivan-Halley J, Bernstein L: **Induced abortion, miscarriage, and breast cancer risk of young women.** Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2003, **12**: 209-214.
58. Collaborative Group on Hormonal Factors: **Breast cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data on 53 297 women with breast cancer and 100 239 women without breast cancer from 54 epidemiological studies.** Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Lancet 1996, **347**: 1713-1727.
59. Marchbanks PA, McDonald JA, Wilson HG, Folger SG, Mandel MG, Daling JR et al.: **Oral contraceptives and the risk of breast cancer.** N Engl J Med 2002, **346**: 2025-2032.
60. Vessey M, Painter R: **Oral contraceptive use and cancer. Findings in a large cohort study, 1968-2004.** Br J Cancer 2006, **95**: 385-389.

61. Hannaford PC, Selvaraj S, Elliott AM, Angus V, Iversen L, Lee AJ: **Cancer risk among users of oral contraceptives: cohort data from the Royal College of General Practitioner's oral contraception study.** BMJ 2007, **335**: 651.
62. Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML et al.: **Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial.** JAMA 2002, **288**: 321-333.
63. Beral V: **Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study.** Lancet 2003, **362**: 419-427.
64. Anderson GL, Limacher M, Assaf AR, Bassford T, Beresford SA, Black H et al.: **Effects of conjugated equine estrogen in postmenopausal women with hysterectomy: the Women's Health Initiative randomized controlled trial.** JAMA 2004, **291**: 1701-1712.
65. Besançon J. Ma medecine. 87. 1948.
66. Bergstrom A, Pisani P, Tenet V, Wolk A, Adami HO: **Overweight as an avoidable cause of cancer in Europe.** Int J Cancer 2001, **91**: 421-430.
67. Lahmann PH, Lissner L, Berglund G: **Breast cancer risk in overweight postmenopausal women.** Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2004, **13**: 1414.
68. Friedenreich CM, Courneya KS, Bryant HE: **Influence of physical activity in different age and life periods on the risk of breast cancer.** Epidemiology 2001, **12**: 604-612.
69. Carroll KK: **Obesity as a risk factor for certain types of cancer.** Lipids 1998, **33**: 1055-1059.
70. Macmahon B, Andersen AP, Brown J, Cole P, Dewaard F, Kauraniemi T et al.: **Urine estrogen profiles in European countries with high or low breast cancer rates.** Eur J Cancer 1980, **16**: 1627-1632.
71. Expertise collective, Inserm. Cancer et environnement. 2008.
72. Johnson KC: **Accumulating evidence on passive and active smoking and breast cancer risk.** Int J Cancer 2005, **117**: 619-628.
73. Hamajima N, Hirose K, Tajima K, Rohan T, Calle EE, Heath CW, Jr. et al.: **Alcohol, tobacco and breast cancer--collaborative reanalysis of individual data from 53 epidemiological studies, including 58,515 women with breast cancer and 95,067 women without the disease.** Br J Cancer 2002, **87**: 1234-1245.
74. Tjonneland A, Christensen J, Olsen A, Stripp C, Thomsen BL, Overvad K et al.: **Alcohol intake and breast cancer risk: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC).** Cancer Causes Control 2007, **18**: 361-373.
75. Yu H: **Alcohol consumption and breast cancer risk.** JAMA 1998, **280**: 1138-1139.
76. Ronckers CM, Erdmann CA, Land CE: **Radiation and breast cancer: a review of current evidence.** Breast Cancer Res 2005, **7**: 21-32.

77. Preston DL, Mattsson A, Holmberg E, Shore R, Hildreth NG, Boice JD, Jr.: **Radiation effects on breast cancer risk: a pooled analysis of eight cohorts.** Radiat Res 2002, **158**: 220-235.
78. **UNSCEAR 2000. The United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation.** Health Phys 2000, **79**: 314.
79. Van Leeuwen FE, Klokman WJ, Stovall M, Dahler EC, van't Veer MB, Noordijk EM et al.: **Roles of radiation dose, chemotherapy, and hormonal factors in breast cancer following Hodgkin's disease.** J Natl Cancer Inst 2003, **95**: 971-980.
80. Tokunaga M, Land CE, Tokuoka S, Nishimori I, Soda M, Akiba S: **Incidence of female breast cancer among atomic bomb survivors, 1950-1985.** Radiat Res 1994, **138**: 209-223.
81. Land CE, Hayakawa N, Machado SG, Yamada Y, Pike MC, Akiba S et al.: **A case-control interview study of breast cancer among Japanese A-bomb survivors. I. Main effects.** Cancer Causes Control 1994, **5**: 157-165.
82. Land CE, Tokunaga M, Koyama K, Soda M, Preston DL, Nishimori I et al.: **Incidence of female breast cancer among atomic bomb survivors, Hiroshima and Nagasaki, 1950-1990.** Radiat Res 2003, **160**: 707-717.
83. Hoffman DA, Lonstein JE, Morin MM, Visscher W, Harris BS, III, Boice JD, Jr.: **Breast cancer in women with scoliosis exposed to multiple diagnostic x rays.** J Natl Cancer Inst 1989, **81**: 1307-1312.
84. Boice JD, Jr., Preston D, Davis FG, Monson RR: **Frequent chest X-ray fluoroscopy and breast cancer incidence among tuberculosis patients in Massachusetts.** Radiat Res 1991, **125**: 214-222.
85. Howe GR, McLaughlin J: **Breast cancer mortality between 1950 and 1987 after exposure to fractionated moderate-dose-rate ionizing radiation in the Canadian fluoroscopy cohort study and a comparison with breast cancer mortality in the atomic bomb survivors study.** Radiat Res 1996, **145**: 694-707.
86. Doody MM, Lonstein JE, Stovall M, Hacker DG, Luckyanov N, Land CE: **Breast cancer mortality after diagnostic radiography: findings from the U.S. Scoliosis Cohort Study.** Spine (Phila Pa 1976) 2000, **25**: 2052-2063.
87. Harvey JA, Bovbjerg VE: **Quantitative assessment of mammographic breast density: relationship with breast cancer risk.** Radiology 2004, **230**: 29-41.
88. Boyd NF, Dite GS, Stone J, Gunasekara A, English DR, McCredie MR et al.: **Heritability of mammographic density, a risk factor for breast cancer.** N Engl J Med 2002, **347**: 886-894.
89. McPherson K, Steel CM, Dixon JM: **ABC of breast diseases. Breast cancer-epidemiology, risk factors, and genetics.** BMJ 2000, **321**: 624-628.
90. Eisinger F, Sobol H, Serin D, Whorton JC: **Hereditary breast cancer, circa 1750.** Lancet 1998, **351**: 1366.
91. Broca P: TraitÃ© des tumeurs. P. Asselin; 1866.

92. Shapiro S, Strax P, Venet L, Fink R: **The search for risk factors in breast cancer.** Am J Public Health Nations Health 1968, **58**: 820-835.
93. Jacobsen O: **Heredity in Breast Cancer: A genetic Study of 200 Probands.** 1946.
94. Williams WR, Anderson DE: **Genetic epidemiology of breast cancer: segregation analysis of 200 Danish pedigrees.** Genet Epidemiol 1984, **1**: 7-20.
95. Schildkraut JM, Risch N, Thompson WD: **Evaluating genetic association among ovarian, breast, and endometrial cancer: evidence for a breast/ovarian cancer relationship.** Am J Hum Genet 1989, **45**: 521-529.
96. Claus EB, Risch NJ, Thompson WD: **Age at onset as an indicator of familial risk of breast cancer.** Am J Epidemiol 1990, **131**: 961-972.
97. Claus EB, Risch N, Thompson WD: **Genetic analysis of breast cancer in the cancer and steroid hormone study.** Am J Hum Genet 1991, **48**: 232-242.
98. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer.: **Familial breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58,209 women with breast cancer and 101,986 women without the disease.** Lancet 2001, **358**: 1389-1399.
99. Andrieu N, Demenais F, Martinez M: **Genetic analysis of human breast cancer: implications for family study designs.** Genet Epidemiol 1988, **5**: 225-233.
100. Goldstein AM, Amos CI: **Segregation analysis of breast cancer from the cancer and steroid hormone study: histologic subtypes.** J Natl Cancer Inst 1990, **82**: 1911-1917.
101. Hall JM, Lee MK, Newman B, Morrow JE, Anderson LA, Huey B et al.: **Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21.** Science 1990, **250**: 1684-1689.
102. Wooster R, Neuhausen SL, Mangion J, Quirk Y, Ford D, Collins N et al.: **Localization of a breast cancer susceptibility gene, BRCA2, to chromosome 13q12-13.** Science 1994, **265**: 2088-2090.
103. Antoniou AC, Pharoah PD, Narod S, Risch HA, Eyfjord JE, Hopper JL et al.: **Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case Series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies.** Am J Hum Genet 2003, **72**: 1117-1130.
104. Foulkes WD: **Inherited susceptibility to common cancers.** N Engl J Med 2008, **359**: 2143-2153.
105. Pilarski R: **Risk perception among women at risk for hereditary breast and ovarian cancer.** J Genet Couns 2009, **18**: 303-312.
106. Nelen MR, Padberg GW, Peeters EA, Lin AY, van den Helm B, Frants RR et al.: **Localization of the gene for Cowden disease to chromosome 10q22-23.** Nat Genet 1996, **13**: 114-116.
107. Marsh DJ, Coulon V, Lunetta KL, Rocca-Serra P, Dahia PL, Zheng Z et al.: **Mutation spectrum and genotype-phenotype analyses in Cowden disease and Bannayan-**

Zonana syndrome, two hamartoma syndromes with germline PTEN mutation. Hum Mol Genet 1998, **7**: 507-515.

108. Riegert-Johnson DL, Gleeson FC, Roberts M, Tholen K, Youngborg L, Bullock M et al.: **Cancer and Lhermitte-Duclos disease are common in Cowden syndrome patients.** Hered Cancer Clin Pract 2010, **8**: 6.
109. Tan MH, Mester JL, Ngeow J, Rybicki LA, Orloff MS, Eng C: **Lifetime cancer risks in individuals with germline PTEN mutations.** Clin Cancer Res 2012, **18**: 400-407.
110. Fitzgerald RC, Hardwick R, Huntsman D, Carneiro F, Guilford P, Blair V et al.: **Hereditary diffuse gastric cancer: updated consensus guidelines for clinical management and directions for future research.** J Med Genet 2010, **47**: 436-444.
111. Boardman LA, Thibodeau SN, Schaid DJ, Lindor NM, McDonnell SK, Burgart LJ et al.: **Increased risk for cancer in patients with the Peutz-Jeghers syndrome.** Ann Intern Med 1998, **128**: 896-899.
112. van Lier MG, Wagner A, Mathus-Vliegen EM, Kuipers EJ, Steyerberg EW, van Leerdam ME: **High cancer risk in Peutz-Jeghers syndrome: a systematic review and surveillance recommendations.** Am J Gastroenterol 2010, **105**: 1258-1264.
113. Li FP, Fraumeni JF, Jr.: **Soft-tissue sarcomas, breast cancer, and other neoplasms. A familial syndrome?** Ann Intern Med 1969, **71**: 747-752.
114. Malkin D, Li FP, Strong LC, Fraumeni JF, Jr., Nelson CE, Kim DH et al.: **Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas, and other neoplasms.** Science 1990, **250**: 1233-1238.
115. Masciari S, Dillon DA, Rath M, Robson M, Weitzel JN, Balmana J et al.: **Breast cancer phenotype in women with TP53 germline mutations: a Li-Fraumeni syndrome consortium effort.** Breast Cancer Res Treat 2012, **133**: 1125-1130.
116. Meijers-Heijboer H, van den Ouweland A, Klijn J, Wasielewski M, de SA, Oldenburg R et al.: **Low-penetrance susceptibility to breast cancer due to CHEK2(*)1100delC in noncarriers of BRCA1 or BRCA2 mutations.** Nat Genet 2002, **31**: 55-59.
117. CHEK2 Breast Cancer Case-Control Consortium.: **CHEK2*1100delC and susceptibility to breast cancer: a collaborative analysis involving 10,860 breast cancer cases and 9,065 controls from 10 studies.** Am J Hum Genet 2004, **74**: 1175-1182.
118. Weischer M, Bojesen SE, Ellervik C, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG: **CHEK2*1100delC genotyping for clinical assessment of breast cancer risk: meta-analyses of 26,000 patient cases and 27,000 controls.** J Clin Oncol 2008, **26**: 542-548.
119. Cybulski C, Wokolorczyk D, Jakubowska A, Huzarski T, Byrski T, Gronwald J et al.: **Risk of breast cancer in women with a CHEK2 mutation with and without a family history of breast cancer.** J Clin Oncol 2011, **29**: 3747-3752.
120. Athma P, Rappaport R, Swift M: **Molecular genotyping shows that ataxia-telangiectasia heterozygotes are predisposed to breast cancer.** Cancer Genet Cytogenet 1996, **92**: 130-134.

121. Thompson D, Duedal S, Kirner J, McGuffog L, Last J, Reiman A et al.: **Cancer risks and mortality in heterozygous ATM mutation carriers.** J Natl Cancer Inst 2005, **97**: 813-822.
122. Easton DF: **Cancer risks in A-T heterozygotes.** Int J Radiat Biol 1994, **66**: S177-S182.
123. Cavaciuti E, Lauge A, Janin N, Ossian K, Hall J, Stoppa-Lyonnet D et al.: **Cancer risk according to type and location of ATM mutation in ataxia-telangiectasia families.** Genes Chromosomes Cancer 2005, **42**: 1-9.
124. Cantor S, Drapkin R, Zhang F, Lin Y, Han J, Pamidi S et al.: **The BRCA1-associated protein BACH1 is a DNA helicase targeted by clinically relevant inactivating mutations.** Proc Natl Acad Sci U S A 2004, **101**: 2357-2362.
125. Rahman N, Seal S, Thompson D, Kelly P, Renwick A, Elliott A et al.: **PALB2, which encodes a BRCA2-interacting protein, is a breast cancer susceptibility gene.** Nat Genet 2007, **39**: 165-167.
126. Seal S, Thompson D, Renwick A, Elliott A, Kelly P, Barfoot R et al.: **Truncating mutations in the Fanconi anemia J gene BRIP1 are low-penetrance breast cancer susceptibility alleles.** Nat Genet 2006, **38**: 1239-1241.
127. Stratton JF, Thompson D, Bobrow L, Dalal N, Gore M, Bishop DT et al.: **The genetic epidemiology of early-onset epithelial ovarian cancer: a population-based study.** Am J Hum Genet 1999, **65**: 1725-1732.
128. de PA, Jolissaint L, Freneaux P, Rouleau E, Stoppa-Lyonnet D, Buecher B: **[Hereditary forms of ovarian cancer].** Bull Cancer 2012, **99**: 453-462.
129. Win AK, Young JP, Lindor NM, Tucker KM, Ahnen DJ, Young GP et al.: **Colorectal and other cancer risks for carriers and noncarriers from families with a DNA mismatch repair gene mutation: a prospective cohort study.** J Clin Oncol 2012, **30**: 958-964.
130. Wooster R, Mangion J, Eeles R, Smith S, Dowsett M, Averill D et al.: **A germline mutation in the androgen receptor gene in two brothers with breast cancer and Reifenshtein syndrome.** Nat Genet 1992, **2**: 132-134.
131. Lobaccaro JM, Lumbroso S, Belon C, Galtier-Dereure F, Bringer J, Lesimple T et al.: **Androgen receptor gene mutation in male breast cancer.** Hum Mol Genet 1993, **2**: 1799-1802.
132. Ghoussaini M, Fletcher O, Michailidou K, Turnbull C, Schmidt MK, Dicks E et al.: **Genome-wide association analysis identifies three new breast cancer susceptibility loci.** Nat Genet 2012, **44**: 312-318.
133. Easton DF, Pooley KA, Dunning AM, Pharoah PD, Thompson D, Ballinger DG et al.: **Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci.** Nature 2007, **447**: 1087-1093.
134. Mcinerney N, Collieran G, Rowan A, Walther A, Barclay E, Spain S et al.: **Low penetrance breast cancer predisposition SNPs are site specific.** Breast Cancer Res Treat 2009, **117**: 151-159.

135. Mazoyer S: **Genomic rearrangements in the BRCA1 and BRCA2 genes.** Hum Mutat 2005, **25**: 415-422.
136. Casilli F, Tournier I, Sinilnikova OM, Coulet F, Soubrier F, Houdayer C et al.: **The contribution of germline rearrangements to the spectrum of BRCA2 mutations.** J Med Genet 2006, **43**: e49.
137. Ferla R, Calo V, Cascio S, Rinaldi G, Badalamenti G, Carreca I et al.: **Founder mutations in BRCA1 and BRCA2 genes.** Ann Oncol 2007, **18 Suppl 6**: vi93-vi98.
138. Narod SA, Foulkes WD: **BRCA1 and BRCA2: 1994 and beyond.** Nat Rev Cancer 2004, **4**: 665-676.
139. Antoniou AC, Sinilnikova OM, Simard J, Leone M, Dumont M, Neuhausen SL et al.: **RAD51 135G-->C modifies breast cancer risk among BRCA2 mutation carriers: results from a combined analysis of 19 studies.** Am J Hum Genet 2007, **81**: 1186-1200.
140. Wang Y, Cortez D, Yazdi P, Neff N, Elledge SJ, Qin J: **BASC, a super complex of BRCA1-associated proteins involved in the recognition and repair of aberrant DNA structures 5.** Genes Dev 2000, **14**: 927-939.
141. Narod SA, Foulkes WD: **BRCA1 and BRCA2: 1994 and beyond.** Nat Rev Cancer 2004, **4**: 665-676.
142. Easton DF, Ford D, Bishop DT: **Breast and ovarian cancer incidence in BRCA1-mutation carriers. Breast Cancer Linkage Consortium.** Am J Hum Genet 1995, **56**: 265-271.
143. Ford D, Easton DF, Stratton M, Narod S, Goldgar D, Devilee P et al.: **Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families. The Breast Cancer Linkage Consortium.** Am J Hum Genet 1998, **62**: 676-689.
144. Chen S, Parmigiani G: **Meta-analysis of BRCA1 and BRCA2 penetrance.** J Clin Oncol 2007, **25**: 1329-1333.
145. Antoniou AC, Spurdle AB, Sinilnikova OM, Healey S, Pooley KA, Schmutzler RK et al.: **Common breast cancer-predisposition alleles are associated with breast cancer risk in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers.** Am J Hum Genet 2008, **82**: 937-948.
146. Antoniou AC, Shenton A, Maher ER, Watson E, Woodward E, Lalloo F et al.: **Parity and breast cancer risk among BRCA1 and BRCA2 mutation carriers.** Breast Cancer Res 2006, **8**: R72.
147. Andrieu N, Goldgar DE, Easton DF, Rookus M, Brohet R, Antoniou AC et al.: **Pregnancies, breast-feeding, and breast cancer risk in the International BRCA1/2 Carrier Cohort Study (IBCCS).** J Natl Cancer Inst 2006, **98**: 535-544.
148. Thompson D, Easton D: **Variation in cancer risks, by mutation position, in BRCA2 mutation carriers.** Am J Hum Genet 2001, **68**: 410-419.
149. Thompson D, Easton DF: **Cancer Incidence in BRCA1 mutation carriers.** J Natl Cancer Inst 2002, **94**: 1358-1365.

150. Lakhani SR, Reis-Filho JS, Fulford L, Penault-Llorca F, van d, V, Parry S et al.: **Prediction of BRCA1 status in patients with breast cancer using estrogen receptor and basal phenotype.** Clin Cancer Res 2005, **11**: 5175-5180.
151. Lakhani SR, Jacquemier J, Sloane JP, Gusterson BA, Anderson TJ, van de Vijver MJ et al.: **Multifactorial analysis of differences between sporadic breast cancers and cancers involving BRCA1 and BRCA2 mutations.** J Natl Cancer Inst 1998, **90**: 1138-1145.
152. Lakhani SR, van de Vijver MJ, Jacquemier J, Anderson TJ, Osin PP, McGuffog L et al.: **The pathology of familial breast cancer: predictive value of immunohistochemical markers estrogen receptor, progesterone receptor, HER-2, and p53 in patients with mutations in BRCA1 and BRCA2.** J Clin Oncol 2002, **20**: 2310-2318.
153. Foulkes WD, Stefansson IM, Chappuis PO, Begin LR, Goffin JR, Wong N et al.: **Germline BRCA1 mutations and a basal epithelial phenotype in breast cancer.** J Natl Cancer Inst 2003, **95**: 1482-1485.
154. Breast Cancer Linkage Consortium: **Pathology of familial breast cancer: differences between breast cancers in carriers of BRCA1 or BRCA2 mutations and sporadic cases.** Breast Cancer Linkage Consortium. Lancet 1997, **349**: 1505-1510.
155. Atchley DP, Albarracin CT, Lopez A, Valero V, Amos CI, Gonzalez-Angulo AM et al.: **Clinical and pathologic characteristics of patients with BRCA-positive and BRCA-negative breast cancer.** J Clin Oncol 2008, **26**: 4282-4288.
156. Turner NC, Reis-Filho JS: **Basal-like breast cancer and the BRCA1 phenotype.** Oncogene 2006, **25**: 5846-5853.
157. van der Groep P, Bouter A, van der Zanden R, Siccama I, Menko FH, Gille JJ et al.: **Distinction between hereditary and sporadic breast cancer on the basis of clinicopathological data.** J Clin Pathol 2006, **59**: 611-617.
158. Verhoog LC, Brekelmans CT, Seynaeve C, Dahmen G, van Geel AN, Bartels CC et al.: **Survival in hereditary breast cancer associated with germline mutations of BRCA2.** J Clin Oncol 1999, **17**: 3396-3402.
159. Evans DG, Howell A, Ward D, Lalloo F, Jones JL, Eccles DM: **Prevalence of BRCA1 and BRCA2 mutations in triple negative breast cancer.** J Med Genet 2011, **48**: 520-522.
160. Gonzalez-Angulo AM, Timms KM, Liu S, Chen H, Litton JK, Potter J et al.: **Incidence and outcome of BRCA mutations in unselected patients with triple receptor-negative breast cancer.** Clin Cancer Res 2011, **17**: 1082-1089.
161. Ma H, Wang Y, Sullivan-Halley J, Weiss L, Marchbanks PA, Spirtas R et al.: **Use of four biomarkers to evaluate the risk of breast cancer subtypes in the women's contraceptive and reproductive experiences study.** Cancer Res 2010, **70**: 575-587.
162. Phipps AI, Malone KE, Porter PL, Daling JR, Li CI: **Reproductive and hormonal risk factors for postmenopausal luminal, HER-2-overexpressing, and triple-negative breast cancer.** Cancer 2008, **113**: 1521-1526.

163. Yang XR, Sherman ME, Rimm DL, Lissowska J, Brinton LA, Peplonska B et al.: **Differences in risk factors for breast cancer molecular subtypes in a population-based study.** *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007, **16**: 439-443.
164. Millikan RC, Newman B, Tse CK, Moorman PG, Conway K, Dressler LG et al.: **Epidemiology of basal-like breast cancer.** *Breast Cancer Res Treat* 2008, **109**: 123-139.
165. Althuis MD, Fergenbaum JH, Garcia-Closas M, Brinton LA, Madigan MP, Sherman ME: **Etiology of hormone receptor-defined breast cancer: a systematic review of the literature.** *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004, **13**: 1558-1568.
166. Anderson WF, Chu KC, Chang S, Sherman ME: **Comparison of age-specific incidence rate patterns for different histopathologic types of breast carcinoma.** *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004, **13**: 1128-1135.
167. Anderson WF, Jatoi I, Devesa SS: **Distinct breast cancer incidence and prognostic patterns in the NCI's SEER program: suggesting a possible link between etiology and outcome.** *Breast Cancer Res Treat* 2005, **90**: 127-137.
168. Turkoz FP, Solak M, Petekkaya I, Keskin O, Kertmen N, Sarici F et al.: **Association between common risk factors and molecular subtypes in breast cancer patients.** *Breast* 2012.
169. Redondo CM, Gago-Dominguez M, Ponte SM, Castelo ME, Jiang X, Garcia AA et al.: **Breast feeding, parity and breast cancer subtypes in a Spanish cohort.** *PLoS One* 2012, **7**: e40543.
170. Yang XR, Chang-Claude J, Goode EL, Couch FJ, Nevanlinna H, Milne RL et al.: **Associations of breast cancer risk factors with tumor subtypes: a pooled analysis from the Breast Cancer Association Consortium studies.** *J Natl Cancer Inst* 2011, **103**: 250-263.
171. Bao PP, Shu XO, Gao YT, Zheng Y, Cai H, Deming SL et al.: **Association of hormone-related characteristics and breast cancer risk by estrogen receptor/progesterone receptor status in the shanghai breast cancer study.** *Am J Epidemiol* 2011, **174**: 661-671.
172. Andrieu N, Easton DF, Chang-Claude J, Rookus MA, Brohet R, Cardis E et al.: **Effect of chest X-rays on the risk of breast cancer among BRCA1/2 mutation carriers in the international BRCA1/2 carrier cohort study: a report from the EMBRACE, GENEPSO, GEO-HEBON, and IBCCS Collaborators' Group.** *J Clin Oncol* 2006, **24**: 3361-3366.
173. Brohet RM, Goldgar DE, Easton DF, Antoniou AC, Andrieu N, Chang-Claude J et al.: **Oral contraceptives and breast cancer risk in the international BRCA1/2 carrier cohort study: a report from EMBRACE, GENEPSO, GEO-HEBON, and the IBCCS Collaborating Group.** *J Clin Oncol* 2007, **25**: 3831-3836.
174. The IBCCS Collaborators Group.. **The International BRCA1/2 Carrier Cohort Study: Purpose, Rationale, and Study Design.** *Breast Cancer Resear* 2 (6). 2002.
175. Antoniou AC, Goldgar DE, Andrieu N, Chang-Claude J, Brohet R, Rookus MA et al.: **A weighted cohort approach for analysing factors modifying disease risks in carriers of high-risk susceptibility genes.** *Genet Epidemiol* 2005, **29**: 1-11.

176. Chang-Claude J, Andrieu N, Rookus M, Brohet R, Antoniou AC, Peock S et al.: **Age at menarche and menopause and breast cancer risk in the International BRCA1/2 Carrier Cohort Study.** *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007, **16**: 740-746.
177. Kirchhoff T, Gaudet MM, Antoniou AC, McGuffog L, Humphreys MK, Dunning AM et al.: **Breast cancer risk and 6q22.33: combined results from Breast Cancer Association Consortium and Consortium of Investigators on Modifiers of BRCA1/2.** *PLoS One* 2012, **7**: e35706.
178. Ding YC, McGuffog L, Healey S, Friedman E, Laitman Y, Paluch-Shimon S et al.: **A Nonsynonymous Polymorphism in IRS1 Modifies Risk of Developing Breast and Ovarian Cancers in BRCA1 and Ovarian Cancer in BRCA2 Mutation Carriers.** *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2012, **21**: 1362-1370.
179. Jakubowska A, Rozkrut D, Antoniou A, Hamann U, Scott RJ, McGuffog L et al.: **Association of PHB 1630 C>T and MTHFR 677 C>T polymorphisms with breast and ovarian cancer risk in BRCA1/2 mutation carriers: results from a multicenter study.** *Br J Cancer* 2012, **106**: 2016-2024.
180. Couch FJ, Gaudet MM, Antoniou AC, Ramus SJ, Kuchenbaecker KB, Soucy P et al.: **Common variants at the 19p13.1 and ZNF365 loci are associated with ER subtypes of breast cancer and ovarian cancer risk in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers.** *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2012, **21**: 645-657.
181. Antoniou AC, Kuchenbaecker KB, Soucy P, Beesley J, Chen X, McGuffog L et al.: **Common variants at 12p11, 12q24, 9p21, 9q31.2 and in ZNF365 are associated with breast cancer risk for BRCA1 and/or BRCA2 mutation carriers.** *Breast Cancer Res* 2012, **14**: R33.
182. Ramus SJ, Antoniou AC, Kuchenbaecker KB, Soucy P, Beesley J, Chen X et al.: **Ovarian cancer susceptibility alleles and risk of ovarian cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers.** *Hum Mutat* 2012, **33**: 690-702.
183. Mavaddat N, Barrowdale D, Andrulis IL, Domchek SM, Eccles D, Nevanlinna H et al.: **Pathology of breast and ovarian cancers among BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: results from the Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA1/2 (CIMBA).** *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2012, **21**: 134-147.
184. Mulligan AM, Couch FJ, Barrowdale D, Domchek SM, Eccles D, Nevanlinna H et al.: **Common breast cancer susceptibility alleles are associated with tumour subtypes in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: results from the Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA1/2.** *Breast Cancer Res* 2011, **13**: R110.
185. Cox DG, Simard J, Sinnett D, Hamdi Y, Soucy P, Ouimet M et al.: **Common variants of the BRCA1 wild-type allele modify the risk of breast cancer in BRCA1 mutation carriers.** *Hum Mol Genet* 2011, **20**: 4732-4747.
186. Antoniou AC, Kartsonaki C, Sinilnikova OM, Soucy P, McGuffog L, Healey S et al.: **Common alleles at 6q25.1 and 1p11.2 are associated with breast cancer risk for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers.** *Hum Mol Genet* 2011, **20**: 3304-3321.
187. Osorio A, Milne RL, Alonso R, Pita G, Peterlongo P, Teule A et al.: **Evaluation of the XRCC1 gene as a phenotypic modifier in BRCA1/2 mutation carriers. Results**

- from the consortium of investigators of modifiers of BRCA1/BRCA2. *Br J Cancer* 2011, **104**: 1356-1361.
188. Antoniou AC, Beesley J, McGuffog L, Sinilnikova OM, Healey S, Neuhausen SL et al.: **Common breast cancer susceptibility alleles and the risk of breast cancer for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: implications for risk prediction.** *Cancer Res* 2010, **70**: 9742-9754.
 189. Engel C, Versmold B, Wappenschmidt B, Simard J, Easton DF, Peock S et al.: **Association of the variants CASP8 D302H and CASP10 V410I with breast and ovarian cancer risk in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers.** *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010, **19**: 2859-2868.
 190. Osorio A, Milne RL, Pita G, Peterlongo P, Heikkinen T, Simard J et al.: **Evaluation of a candidate breast cancer associated SNP in ERCC4 as a risk modifier in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. Results from the Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA1/BRCA2 (CIMBA).** *Br J Cancer* 2009, **101**: 2048-2054.
 191. Sinilnikova OM, Antoniou AC, Simard J, Healey S, Leone M, Sinnett D et al.: **The TP53 Arg72Pro and MDM2 309G>T polymorphisms are not associated with breast cancer risk in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers.** *Br J Cancer* 2009, **101**: 1456-1460.
 192. Johnatty SE, Couch FJ, Fredericksen Z, Tarrell R, Spurdle AB, Beesley J et al.: **No evidence that GATA3 rs570613 SNP modifies breast cancer risk.** *Breast Cancer Res Treat* 2009, **117**: 371-379.
 193. Osorio A, Pollan M, Pita G, Schmutzler RK, Versmold B, Engel C et al.: **An evaluation of the polymorphisms Ins16bp and Arg72Pro in p53 as breast cancer risk modifiers in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers.** *Br J Cancer* 2008, **99**: 974-977.
 194. Gayther SA, Warren W, Mazoyer S, Russell PA, Harrington PA, Chiano M et al.: **Germline mutations of the BRCA1 gene in breast and ovarian cancer families provide evidence for a genotype-phenotype correlation.** *Nat Genet* 1995, **11**: 428-433.
 195. Aretini P, D'Andrea E, Pasini B, Viel A, Mariani CR, Cortesi L et al.: **Different expressivity of BRCA1 and BRCA2: analysis of 179 Italian pedigrees with identified mutation.** *Breast Cancer Res Treat* 2003, **81**: 71-79.
 196. Reedy M, Gallion H, Fowler JM, Kryscio R, Smith SA: **Contribution of BRCA1 and BRCA2 to familial ovarian cancer: a gynecologic oncology group study.** *Gynecol Oncol* 2002, **85**: 255-259.
 197. **BRCA1 and BRCA2 mutations in Scotland and Northern Ireland.** *Br J Cancer* 2003, **88**: 1256-1262.
 198. Risch HA, McLaughlin JR, Cole DE, Rosen B, Bradley L, Kwan E et al.: **Prevalence and penetrance of germline BRCA1 and BRCA2 mutations in a population series of 649 women with ovarian cancer.** *Am J Hum Genet* 2001, **68**: 700-710.

199. Risch HA, McLaughlin JR, Cole DE, Rosen B, Bradley L, Fan I et al.: **Population BRCA1 and BRCA2 mutation frequencies and cancer penetrances: a kin-cohort study in Ontario, Canada.** J Natl Cancer Inst 2006, **98**: 1694-1706.
200. Thompson D, Easton D: **Variation in BRCA1 cancer risks by mutation position.** Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2002, **11**: 329-336.
201. Scott CL, Jenkins MA, Southey MC, Davis TA, Leary JA, Easton DF et al.: **Average age-specific cumulative risk of breast cancer according to type and site of germline mutations in BRCA1 and BRCA2 estimated from multiple-case breast cancer families attending Australian family cancer clinics.** Hum Genet 2003, **112**: 542-551.
202. Al-Mulla F, Hagan S, Al-Ali W, Jacob SP, Behbehani AI, Bitar MS et al.: **Raf kinase inhibitor protein: mechanism of loss of expression and association with genomic instability.** J Clin Pathol 2008, **61**: 524-529.
203. Milne RL, Osorio A, Cajal TR, Vega A, Llorca G, de la Hoya M et al.: **The average cumulative risks of breast and ovarian cancer for carriers of mutations in BRCA1 and BRCA2 attending genetic counseling units in Spain.** Clin Cancer Res 2008, **14**: 2861-2869.
204. Beristain E, Ibanez B, Vergara I, Martinez-Bouzas C, Guerra I, Tejada MI: **Breast and ovarian cancer risk evaluation in families with a disease-causing mutation in BRCA1/2.** J Community Genet 2010, **1**: 91-99.
205. Begg CB, Haile RW, Borg A, Malone KE, Concannon P, Thomas DC et al.: **Variation of breast cancer risk among BRCA1/2 carriers.** JAMA 2008, **299**: 194-201.
206. Couch P: **Estrogen and progesterone receptors in breast cancer.** Am J Dermatopathol 1997, **19**: 553-555.
207. Gayther SA, Mangion J, Russell P, Seal S, Barfoot R, Ponder BA et al.: **Variation of risks of breast and ovarian cancer associated with different germline mutations of the BRCA2 gene.** Nat Genet 1997, **15**: 103-105.
208. Neuhausen SL, Godwin AK, Gershoni-Baruch R, Schubert E, Garber J, Stoppa-Lyonnet D et al.: **Haplotype and phenotype analysis of nine recurrent BRCA2 mutations in 111 families: results of an international study.** Am J Hum Genet 1998, **62**: 1381-1388.
209. Baserga SJ, Benz EJ, Jr.: **Nonsense mutations in the human beta-globin gene affect mRNA metabolism.** Proc Natl Acad Sci U S A 1988, **85**: 2056-2060.
210. Urlaub G, Mitchell PJ, Ciudad CJ, Chasin LA: **Nonsense mutations in the dihydrofolate reductase gene affect RNA processing.** Mol Cell Biol 1989, **9**: 2868-2880.
211. Culbertson MR, Leeds PF: **Looking at mRNA decay pathways through the window of molecular evolution.** Curr Opin Genet Dev 2003, **13**: 207-214.
212. Zhang Z, Diwan BA, Anderson LM, Logsdon D, Olivero OA, Haines DC et al.: **Skin tumorigenesis and Ki-ras and Ha-ras mutations in tumors from adult mice exposed in utero to 3'-azido-2',3'-dideoxythymidine.** Mol Carcinog 1998, **23**: 45-51.

213. Nagy E, Maquat LE: **A rule for termination-codon position within intron-containing genes: when nonsense affects RNA abundance.** Trends Biochem Sci 1998, **23**: 198-199.
214. Zhang J, Maquat LE: **Evidence that translation reinitiation abrogates nonsense-mediated mRNA decay in mammalian cells.** EMBO J 1997, **16**: 826-833.
215. Bateman JF, Freddi S, Natrass G, Savarirayan R: **Tissue-specific RNA surveillance? Nonsense-mediated mRNA decay causes collagen X haploinsufficiency in Schmid metaphyseal chondrodysplasia cartilage.** Hum Mol Genet 2003, **12**: 217-225.
216. Perrin-Vidoz L, Sinilnikova OM, Stoppa-Lyonnet D, Lenoir GM, Mazoyer S: **The nonsense-mediated mRNA decay pathway triggers degradation of most BRCA1 mRNAs bearing premature termination codons.** Hum Mol Genet 2002, **11**: 2805-2814.
217. Ware MD, DeSilva D, Sinilnikova OM, Stoppa-Lyonnet D, Tavtigian SV, Mazoyer S: **Does nonsense-mediated mRNA decay explain the ovarian cancer cluster region of the BRCA2 gene?** Oncogene 2006, **25**: 323-328.
218. Barnes DR, Antoniou AC: **Unravelling modifiers of breast and ovarian cancer risk for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: update on genetic modifiers.** J Intern Med 2012.
219. Antoniou AC, Wang X, Fredericksen ZS, McGuffog L, Tarrell R, Sinilnikova OM et al.: **A locus on 19p13 modifies risk of breast cancer in BRCA1 mutation carriers and is associated with hormone receptor-negative breast cancer in the general population.** Nat Genet 2010, **42**: 885-892.
220. Fan S, Wang J, Yuan R, Ma Y, Meng Q, Erdos MR et al.: **BRCA1 inhibition of estrogen receptor signaling in transfected cells.** Science 1999, **284**: 1354-1356.
221. Fan S, Ma YX, Wang C, Yuan RQ, Meng Q, Wang JA et al.: **Role of direct interaction in BRCA1 inhibition of estrogen receptor activity.** Oncogene 2001, **20**: 77-87.
222. Razandi M, Pedram A, Rosen EM, Levin ER: **BRCA1 inhibits membrane estrogen and growth factor receptor signaling to cell proliferation in breast cancer.** Mol Cell Biol 2004, **24**: 5900-5913.
223. Cabanes A, Wang M, Olivo S, DeAssis S, Gustafsson JA, Khan G et al.: **Prepubertal estradiol and genistein exposures up-regulate BRCA1 mRNA and reduce mammary tumorigenesis.** Carcinogenesis 2004, **25**: 741-748.
224. Kotsopoulos J, Lubinski J, Lynch HT, Neuhausen SL, Ghadirian P, Isaacs C et al.: **Age at menarche and the risk of breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers.** Cancer Causes Control 2005, **16**: 667-674.
225. Gronwald J, Byrski T, Huzarski T, Cybulski C, Sun P, Tulman A et al.: **Influence of selected lifestyle factors on breast and ovarian cancer risk in BRCA1 mutation carriers from Poland.** Breast Cancer Res Treat 2006, **95**: 105-109.
226. Lee E, Ma H, McKean-Cowdin R, Van Den BD, Bernstein L, Henderson BE et al.: **Effect of reproductive factors and oral contraceptives on breast cancer risk in BRCA1/2 mutation carriers and noncarriers: results from a population-based study.** Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2008, **17**: 3170-3178.

227. Tryggvadottir L, Olafsdottir EJ, Gudlaugsdottir S, Thorlacius S, Jonasson JG, Tulinius H et al.: **BRCA2 mutation carriers, reproductive factors and breast cancer risk.** Breast Cancer Res 2003, **5**: R121-R128.
228. Rebbeck TR, Wang Y, Kantoff PW, Krithivas K, Neuhausen SL, Godwin AK et al.: **Modification of BRCA1- and BRCA2-associated breast cancer risk by AIB1 genotype and reproductive history.** Cancer Res 2001, **61**: 5420-5424.
229. Cullinane CA, Lubinski J, Neuhausen SL, Ghadirian P, Lynch HT, Isaacs C et al.: **Effect of pregnancy as a risk factor for breast cancer in BRCA1/BRCA2 mutation carriers.** Int J Cancer 2005, **117**: 988-991.
230. Milne RL, Benitez J, Nevanlinna H, Heikkinen T, Aittomaki K, Blomqvist C et al.: **Risk of estrogen receptor-positive and -negative breast cancer and single-nucleotide polymorphism 2q35-rs13387042.** J Natl Cancer Inst 2009, **101**: 1012-1018.
231. Jernstrom H, Lubinski J, Lynch HT, Ghadirian P, Neuhausen S, Isaacs C et al.: **Breast-feeding and the risk of breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers.** J Natl Cancer Inst 2004, **96**: 1094-1098.
232. Kotsopoulos J, Lubinski J, Salmena L, Lynch HT, Kim-Sing C, Foulkes WD et al.: **Breastfeeding and the Risk of Breast Cancer in BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers.** Breast Cancer Res 2012, **14**: R42.
233. Jernstrom H, Lerman C, Ghadirian P, Lynch HT, Weber B, Garber J et al.: **Pregnancy and risk of early breast cancer in carriers of BRCA1 and BRCA2.** Lancet 1999, **354**: 1846-1850.
234. Friedman E, Kotsopoulos J, Lubinski J, Lynch HT, Ghadirian P, Neuhausen SL et al.: **Spontaneous and therapeutic abortions and the risk of breast cancer among BRCA mutation carriers.** Breast Cancer Res 2006, **8**: R15.
235. Whittemore AS, Gong G, John EM, McGuire V, Li FP, Ostrow KL et al.: **Prevalence of BRCA1 mutation carriers among U.S. non-Hispanic Whites.** Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2004, **13**: 2078-2083.
236. McLaughlin JR, Risch HA, Lubinski J, Moller P, Ghadirian P, Lynch H et al.: **Reproductive risk factors for ovarian cancer in carriers of BRCA1 or BRCA2 mutations: a case-control study.** Lancet Oncol 2007, **8**: 26-34.
237. Narod SA, Dube MP, Klijn J, Lubinski J, Lynch HT, Ghadirian P et al.: **Oral contraceptives and the risk of breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers.** J Natl Cancer Inst 2002, **94**: 1773-1779.
238. Heimdal K, Skovlund E, Moller P: **Oral contraceptives and risk of familial breast cancer.** Cancer Detect Prev 2002, **26**: 23-27.
239. Iodice S, Barile M, Rotmensz N, Feroce I, Bonanni B, Radice P et al.: **Oral contraceptive use and breast or ovarian cancer risk in BRCA1/2 carriers: a meta-analysis.** Eur J Cancer 2010, **46**: 2275-2284.
240. Rebbeck TR, Levin AM, Eisen A, Snyder C, Watson P, Cannon-Albright L et al.: **Breast cancer risk after bilateral prophylactic oophorectomy in BRCA1 mutation carriers.** J Natl Cancer Inst 1999, **91**: 1475-1479.

241. Kotsopoulos J, Olopado OI, Ghadirian P, Lubinski J, Lynch HT, Isaacs C et al.: **Changes in body weight and the risk of breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers.** Breast Cancer Res 2005, **7**: R833-R843.
242. Nkondjock A, Robidoux A, Paredes Y, Narod SA, Ghadirian P: **Diet, lifestyle and BRCA-related breast cancer risk among French-Canadians.** Breast Cancer Res Treat 2006, **98**: 285-294.
243. Manders P, Pijpe A, Hooning MJ, Kluijdt I, Vasen HF, Hoogerbrugge N et al.: **Body weight and risk of breast cancer in BRCA1/2 mutation carriers.** Breast Cancer Res Treat 2011, **126**: 193-202.
244. Chang-Claude J, Becher H, Eby N, Bastert G, Wahrendorf J, Hamann U: **Modifying effect of reproductive risk factors on the age at onset of breast cancer for German BRCA1 mutation carriers.** J Cancer Res Clin Oncol 1997, **123**: 272-279.
245. Ghadirian P, Lubinski J, Lynch H, Neuhausen SL, Weber B, Isaacs C et al.: **Smoking and the risk of breast cancer among carriers of BRCA mutations.** Int J Cancer 2004, **110**: 413-416.
246. Brunet JS, Ghadirian P, Rebbeck TR, Lerman C, Garber JE, Tonin PN et al.: **Effect of smoking on breast cancer in carriers of mutant BRCA1 or BRCA2 genes.** J Natl Cancer Inst 1998, **90**: 761-766.
247. Colilla S, Kantoff PW, Neuhausen SL, Godwin AK, Daly MB, Narod SA et al.: **The joint effect of smoking and AIB1 on breast cancer risk in BRCA1 mutation carriers.** Carcinogenesis 2006, **27**: 599-605.
248. Ginsburg O, Ghadirian P, Lubinski J, Cybulski C, Lynch H, Neuhausen S et al.: **Smoking and the risk of breast cancer in BRCA1 and BRCA2 carriers: an update.** Breast Cancer Res Treat 2009, **114**: 127-135.
249. Breast Cancer Family Registry, Whittemore AS, John EM, Felberg A, McGuire V, West DW et al.: **Smoking and risk of breast cancer in carriers of mutations in BRCA1 or BRCA2 aged less than 50 years.** Breast Cancer Res Treat 2008, **109**: 67-75.
250. Dal Maso L, Zucchetto A, Talamini R, Serraino D, Stocco CF, Vercelli M et al.: **Effect of obesity and other lifestyle factors on mortality in women with breast cancer.** Int J Cancer 2008, **123**: 2188-2194.
251. Hellmann SS, Thygesen LC, Tolstrup JS, Gronbaek M: **Modifiable risk factors and survival in women diagnosed with primary breast cancer: results from a prospective cohort study.** Eur J Cancer Prev 2010, **19**: 366-373.
252. Holmes MD, Murin S, Chen WY, Kroenke CH, Spiegelman D, Colditz GA: **Smoking and survival after breast cancer diagnosis.** Int J Cancer 2007, **120**: 2672-2677.
253. Kwan ML, Kushi LH, Weltzien E, Tam EK, Castillo A, Sweeney C et al.: **Alcohol consumption and breast cancer recurrence and survival among women with early-stage breast cancer: the life after cancer epidemiology study.** J Clin Oncol 2010, **28**: 4410-4416.
254. Feigelson HS, Calle EE, Robertson AS, Wingo PA, Thun MJ: **Alcohol consumption increases the risk of fatal breast cancer (United States).** Cancer Causes Control 2001, **12**: 895-902.

255. McGuire V, John EM, Felberg A, Haile RW, Boyd NF, Thomas DC et al.: **No increased risk of breast cancer associated with alcohol consumption among carriers of BRCA1 and BRCA2 mutations ages <50 years.** *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006, **15**: 1565-1567.
256. Moorman PG, Iversen ES, Marcom PK, Marks JR, Wang F, Lee E et al.: **Evaluation of established breast cancer risk factors as modifiers of BRCA1 or BRCA2: a multi-center case-only analysis.** *Breast Cancer Res Treat* 2010, **124**: 441-451.
257. Dennis J, Ghadirian P, Little J, Lubinski J, Gronwald J, Kim-Sing C et al.: **Alcohol consumption and the risk of breast cancer among BRCA1 and BRCA2 mutation carriers.** *Breast* 2010, **19**: 479-483.
258. Gronwald J, Pijpe A, Byrski T, Huzarski T, Stawicka M, Cybulski C et al.: **Early radiation exposures and BRCA1-associated breast cancer in young women from Poland.** *Breast Cancer Res Treat* 2008, **112**: 581-584.
259. Goldfrank D, Chuai S, Bernstein JL, Ramon YC, Lee JB, Alonso MC et al.: **Effect of mammography on breast cancer risk in women with mutations in BRCA1 or BRCA2.** *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006, **15**: 2311-2313.
260. Narod SA, Lubinski J, Ghadirian P, Lynch HT, Moller P, Foulkes WD et al.: **Screening mammography and risk of breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: a case-control study.** *Lancet Oncol* 2006, **7**: 402-406.
261. Millikan RC, Player JS, Decotret AR, Tse CK, Keku T: **Polymorphisms in DNA repair genes, medical exposure to ionizing radiation, and breast cancer risk.** *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005, **14**: 2326-2334.
262. Pijpe A, Andrieu N, Easton DF, Kesminiene A, Cardis E, Nogues C et al.: **Exposure to diagnostic radiation and risk of breast cancer among carriers of BRCA1/2 mutations: retrospective cohort study (GENE-RAD-RISK).** *BMJ* 2012, **345**: e5660.
263. Kurian AW, Sigal BM, Plevritis SK: **Survival analysis of cancer risk reduction strategies for BRCA1/2 mutation carriers.** *J Clin Oncol* 2010, **28**: 222-231.
264. Julian-Reynier C, Mancini J, Mouret-Fourme E, Gauthier-Villars M, Bonadona V, Berthet P et al.: **Cancer risk management strategies and perceptions of unaffected women 5 years after predictive genetic testing for BRCA1/2 mutations.** *Eur J Hum Genet* 2011, **19**: 500-506.
265. Foster C, Watson M, Eeles R, Eccles D, Ashley S, Davidson R et al.: **Predictive genetic testing for BRCA1/2 in a UK clinical cohort: three-year follow-up.** *Br J Cancer* 2007, **96**: 718-724.
266. Meijers-Heijboer EJ, Verhoog LC, Brekelmans CT, Seynaeve C, Tilanus-Linthorst MM, Wagner A et al.: **Presymptomatic DNA testing and prophylactic surgery in families with a BRCA1 or BRCA2 mutation.** *Lancet* 2000, **355**: 2015-2020.
267. Hartmann LC, Schaid DJ, Woods JE, Crotty TP, Myers JL, Arnold PG et al.: **Efficacy of bilateral prophylactic mastectomy in women with a family history of breast cancer.** *N Engl J Med* 1999, **340**: 77-84.

268. McDonnell SK, Schaid DJ, Myers JL, Grant CS, Donohue JH, Woods JE et al.: **Efficacy of contralateral prophylactic mastectomy in women with a personal and family history of breast cancer.** J Clin Oncol 2001, **19**: 3938-3943.
269. Sacchini V, Pinotti JA, Barros AC, Luini A, Pluchinotta A, Pinotti M et al.: **Nipple-sparing mastectomy for breast cancer and risk reduction: oncologic or technical problem?** J Am Coll Surg 2006, **203**: 704-714.
270. Eisinger F, Stoppa-Lyonnet D, Lasset C, Vennin P, Chabal F, Nogues C et al.: **Comparison of physicians' and cancer prone women's attitudes about breast/ovarian prophylactic surgery. Results from two national surveys.** Fam Cancer 2001, **1**: 157-162.
271. Julian-Reynier CM, Bouchard LJ, Evans DG, Eisinger FA, Foulkes WD, Kerr B et al.: **Women's attitudes toward preventive strategies for hereditary breast or ovarian carcinoma differ from one country to another: differences among English, French, and Canadian women.** Cancer 2001, **92**: 959-968.
272. Kauff ND, Satagopan JM, Robson ME, Scheuer L, Hensley M, Hudis CA et al.: **Risk-reducing salpingo-oophorectomy in women with a BRCA1 or BRCA2 mutation.** N Engl J Med 2002, **346**: 1609-1615.
273. Rebbeck TR, Lynch HT, Neuhausen SL, Narod SA, Van't Veer L, Garber JE et al.: **Prophylactic oophorectomy in carriers of BRCA1 or BRCA2 mutations.** N Engl J Med 2002, **346**: 1616-1622.
274. Eisen A, Lubinski J, Klijn J, Moller P, Lynch HT, Offit K et al.: **Breast cancer risk following bilateral oophorectomy in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: an international case-control study.** J Clin Oncol 2005, **23**: 7491-7496.
275. Metcalfe K, Lynch HT, Ghadirian P, Tung N, Olivotto I, Warner E et al.: **Contralateral breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers.** J Clin Oncol 2004, **22**: 2328-2335.
276. Kauff ND, Domchek SM, Friebel TM, Robson ME, Lee J, Garber JE et al.: **Risk-reducing salpingo-oophorectomy for the prevention of B.** J Clin Oncol 2008, **26**: 1331-1337.
277. **Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials.** Lancet 2005, **365**: 1687-1717.
278. Cuzick J, Powles T, Veronesi U, Forbes J, Edwards R, Ashley S et al.: **Overview of the main outcomes in breast-cancer prevention trials.** Lancet 2003, **361**: 296-300.
279. Schouten JP, McElgunn CJ, Waaijer R, Zwiijnenburg D, Diepvens F, Pals G: **Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification.** Nucleic Acids Res 2002, **30**: e57.
280. Casilli F, Di Rocco ZC, Gad S, Tournier I, Stoppa-Lyonnet D, Frebourg T et al.: **Rapid detection of novel BRCA1 rearrangements in high-risk breast-ovarian cancer families using multiplex PCR of short fluorescent fragments.** Hum Mutat 2002, **20**: 218-226.

281. Barrois M, Bieche I, Mazoyer S, Champeme MH, Bressac-de Paillerets B, Lidereau R: **Real-time PCR-based gene dosage assay for detecting BRCA1 rearrangements in breast-ovarian cancer families.** Clin Genet 2004, **65**: 131-136.
282. Rouleau E, Lefol C, Bourdon V, Coulet F, Noguchi T, Soubrier F et al.: **Quantitative PCR high-resolution melting (qPCR-HRM) curve analysis, a new approach to simultaneously screen point mutations and large rearrangements: application to MLH1 germline mutations in Lynch syndrome.** Hum Mutat 2009, **30**: 867-875.
283. Weber J, Miserere S, Champ J, Looten R, Stoppa-Lyonnet D, Viovy JL et al.: **High-throughput simultaneous detection of point mutations and large-scale rearrangements by CE.** Electrophoresis 2007, **28**: 4282-4288.
284. Gad S, Aurias A, Puget N, Mairal A, Schurra C, Montagna M et al.: **Color bar coding the BRCA1 gene on combed DNA: a useful strategy for detecting large gene rearrangements.** Genes Chromosomes Cancer 2001, **31**: 75-84.
285. Rouleau E, Lefol C, Tozlu S, Andrieu C, Guy C, Copigny F et al.: **High-resolution oligonucleotide array-CGH applied to the detection and characterization of large rearrangements in the hereditary breast cancer gene BRCA1.** Clin Genet 2007, **72**: 199-207.
286. Cox DR: **Regression Models and Life Tables.** Journal of the Royal Statistical Society, Series B 1972, **34**: 187-220.
287. Cox DR: **Partial Likelihood.** Biometrika, 1975, **62**: 269-276.
288. Shariff SZ, Cuerden MS, Jain AK, Garg AX: **The secret of immortal time bias in epidemiologic studies.** J Am Soc Nephrol 2008, **19**: 841-843.
289. Farr W. A Memorial Volume of Selections from the Reports and writings. 1885. 2012.
290. Sylvestre MP, Huszti E, Hanley JA: **Do OSCAR winners live longer than less successful peers? A reanalysis of the evidence.** Ann Intern Med 2006, **145**: 361-363.
291. Lecarpentier J, Nogues C, Mouret-Fourme E, Stoppa-Lyonnet D, Lasset C, Caron O et al.: **Variation in breast cancer risk with mutation position, smoking, alcohol, and chest X-ray history, in the French National BRCA1/2 carrier cohort (GENEPSO).** Breast Cancer Res Treat 2011, **130**: 927-938.
292. Lecarpentier J, Nogues C, Mouret-Fourme E, Gauthier-Villars M, Lasset C, Fricker JP et al.: **Variation in breast cancer risk associated with factors related to pregnancies according to truncating mutation location, in the French National BRCA1 and BRCA2 mutations carrier cohort (GENEPSO).** Breast Cancer Res 2012, **14**: R99.
293. Hofferbert S, Worringen U, Backe J, Ruckert EM, White K, Faller H et al.: **Simultaneous interdisciplinary counseling in German breast/ovarian cancer families: first experiences with patient perceptions, surveillance behavior and acceptance of genetic testing.** Genet Couns 2000, **11**: 127-146.
294. Ma H, Hill CK, Bernstein L, Ursin G: **Low-dose medical radiation exposure and breast cancer risk in women under age 50 years overall and by estrogen and progesterone receptor status: results from a case-control and a case-case comparison.** Breast Cancer Res Treat 2008, **109**: 77-90.

295. Nkondjock A, Ghadirian P, Kotsopoulos J, Lubinski J, Lynch H, Kim-Sing C et al.: **Coffee consumption and breast cancer risk among BRCA1 and BRCA2 mutation carriers.** *Int J Cancer* 2006, **118**: 103-107.
296. Milne RL, Osorio A, Cajal T, Baiget M, Lasa A, Diaz-Rubio E et al.: **Parity and the risk of breast and ovarian cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers.** *Breast Cancer Res Treat* 2010, **119**: 221-232.
297. Negri E, La VC, Bruzzi P, Dardanoni G, Decarli A, Palli D et al.: **Risk factors for breast cancer: pooled results from three Italian case-control studies.** *Am J Epidemiol* 1988, **128**: 1207-1215.
298. Newcomb PA, Storer BE, Longnecker MP, Mittendorf R, Greenberg ER, Willett WC: **Pregnancy termination in relation to risk of breast cancer.** *JAMA* 1996, **275**: 283-287.
299. Wingo PA, Newsome K, Marks JS, Calle EE, Parker SL: **The risk of breast cancer following spontaneous or induced abortion.** *Cancer Causes Control* 1997, **8**: 93-108.
300. Zografos GC, Panou M, Panou N: **Common risk factors of breast and ovarian cancer: recent view.** *Int J Gynecol Cancer* 2004, **14**: 721-740.
301. Daling JR, Brinton LA, Voigt LF, Weiss NS, Coates RJ, Malone KE et al.: **Risk of breast cancer among white women following induced abortion.** *Am J Epidemiol* 1996, **144**: 373-380.
302. Daling JR, Malone KE, Voigt LF, White E, Weiss NS: **Risk of breast cancer among young women: relationship to induced abortion.** *J Natl Cancer Inst* 1994, **86**: 1584-1592.
303. Andrieu N, Duffy SW, Rohan TE, Le MG, Luporsi E, Gerber M et al.: **Familial risk, abortion and their interactive effect on the risk of breast cancer--a combined analysis of six case-control studies.** *Br J Cancer* 1995, **72**: 744-751.
304. Russo J, Russo IH: **Cellular basis of breast cancer susceptibility.** *Oncol Res* 1999, **11**: 169-178.
305. Russo J, Russo IH: **Development of the human breast.** *Maturitas* 2004, **49**: 2-15.
306. Couch FJ, Sinilnikova O, Vierkant RA, Pankratz VS, Fredericksen ZS, Stoppa-Lyonnet D et al.: **AURKA F31I polymorphism and breast cancer risk in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: a consortium of investigators of modifiers of BRCA1/2 study.** *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007, **16**: 1416-1421.
307. Marston NJ, Richards WJ, Hughes D, Bertwistle D, Marshall CJ, Ashworth A: **Interaction between the product of the breast cancer susceptibility gene BRCA2 and DSS1, a protein functionally conserved from yeast to mammals.** *Mol Cell Biol* 1999, **19**: 4633-4642.
308. Li J, Zou C, Bai Y, Wazer DE, Band V, Gao Q: **DSS1 is required for the stability of BRCA2.** *Oncogene* 2006, **25**: 1186-1194.
309. Yang XR, Pfeiffer RM, Garcia-Closas M, Rimm DL, Lissowska J, Brinton LA et al.: **Hormonal markers in breast cancer: coexpression, relationship with pathologic**

- characteristics, and risk factor associations in a population-based study.** *Cancer Res* 2007, **67**: 10608-10617.
310. Marquis ST, Rajan JV, Wynshaw-Boris A, Xu J, Yin GY, Abel KJ et al.: **The developmental pattern of Brca1 expression implies a role in differentiation of the breast and other tissues.** *Nat Genet* 1995, **11**: 17-26.
 311. Gudas JM, Nguyen H, Li T, Cowan KH: **Hormone-dependent regulation of BRCA1 in human breast cancer cells.** *Cancer Res* 1995, **55**: 4561-4565.
 312. Malone JL, Nelson AC, Lieberman R, Anderson S, Holt JT: **Oestrogen-mediated phosphorylation and stabilization of BRCA2 protein in breast.** *J Pathol* 2009, **217**: 380-388.
 313. Bennett LM, McAllister KA, Malphurs J, Ward T, Collins NK, Seely JC et al.: **Mice heterozygous for a Brca1 or Brca2 mutation display distinct mammary gland and ovarian phenotypes in response to diethylstilbestrol.** *Cancer Res* 2000, **60**: 3461-3469.
 314. Carey LA, Perou CM, Livasy CA, Dressler LG, Cowan D, Conway K et al.: **Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study.** *JAMA* 2006, **295**: 2492-2502.
 315. Del Casar JM, Martin A, Garcia C, Corte MD, Alvarez A, Junquera S et al.: **Characterization of breast cancer subtypes by quantitative assessment of biological parameters: relationship with clinicopathological characteristics, biological features and prognosis.** *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2008, **141**: 147-152.
 316. De Pauw A. Estimation des risques de cancer du sein et de l'ovaire des femmes sans mutation des gènes BRCA1et BRCA2: apport des modèles de calcul de risque. 2012.
 317. Eisinger F, Bressac B, Castaigne D, Cottu PH, Lansac J, Lefranc JP et al.: **[Identification and management of hereditary predisposition to cancer of the breast and the ovary (update 2004)].** *Bull Cancer* 2004, **91**: 219-237.
 318. Inserm. Risques héréditaires du cancers du sein et de l'ovaire: quel prise en charge ? les éditions Inserm. 1998.
 319. Bonaiti B, Alarcon F, Bonadona V, Pennec S, Andrieu N, Stoppa-Lyonnet D et al.: **[A new scoring system for the diagnosis of BRCA1/2 associated breast-ovarian cancer predisposition].** *Bull Cancer* 2011, **98**: 779-795.
 320. Bonaiti-Pellie C, Andrieu N, Arveux P, Bonadona V, Buecher B, Delpech M et al.: **[Cancer genetics: estimation of the needs of the population in France for the next ten years].** *Bull Cancer* 2009, **96**: 875-900.